



T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ
ANABİLİM DALI



**MATERNAL CDP-KOLİN TEDAVİSİNİN YENİDOĞAN SIÇAN
AKCİĞER DOKUSU MATURASYONU ÜZERİNE OLASI
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Cansu KOÇ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BURSA-2019





T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
TIBBİ FARMAKOLOJİ ANABİLİM DALI



**MATERNAL CDP-KOLİN TEDAVİSİNİN YENİDOĞAN SIÇAN
AKCİĞER DOKUSU MATURASYONU ÜZERİNE OLASI
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Cansu KOÇ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

DANIŞMAN:

Prof. Dr. Mehmet CANSEV

KUAP(T)-2016/23 - B.U.Ü. BAP

BURSA-2019

**T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

ETİK BEYANI

Yüksek Lisans tezi olarak sunduğum “**Maternal CDP-kolin Tedavisinin Yenidoğan Sıçan Akciğer Dokusu Maturasyonu Üzerine Olası Etkilerinin Araştırılması**” adlı çalışmanın, proje safhasından sonuçlanmasına kadar geçen bütün süreçlerde bilimsel etik kurallarına uygun bir şekilde hazırlandığını ve yararlandığım eserlerin kaynaklar bölümünde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir ve beyan ederim.

Cansu KOÇ

04.01.2019

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi **Cansu KOÇ** tarafından hazırlanan “**Maternal CDP-kolin Tedavisinin Yenidoğan Sıçan Akciğer Dokusu Maturasyonu Üzerine Olası Etkilerinin Araştırılması**” konulu Yüksek Lisans tezi 04/01/2019 günü, 10:00-12:00 saatleri arasında yapılan tez savunma sınavında jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Adı-Soyadı

İmza

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Mehmet CANSEV

Üye

Prof. Dr. Sinan ÇAVUN

Üye

Prof. Dr. Merih ÇETİNKAYA

Üye

Üye

Bu tez Enstitü Yönetim Kurulu'nun tarih ve sayılı toplantısında alınan numaralı kararı ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Ali AYDOĞDU
Enstitü Müdürü

TEZ KONTROL ve BEYAN FORMU

...../...../.....

Adı Soyadı: Cansu KOÇ

Anabilim Dalı: Tıp -Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı

Tez Konusu: Maternal CDP-kolin Tedavisinin Yenidoğan Sıçan Akciğer Dokusu Maturasyonu Üzerine Olası Etkilerinin Araştırılması

<u>ÖZELLİKLER</u>	<u>UYGUNDUR</u>	<u>UYGUN DEĞİLDİR</u>	<u>AÇIKLAMA</u>
Tezin Boyutları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Dış Kapak Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İç Kapak Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kabul Onay Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Düzeni	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
İçindekiler Sayfası	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Yazı Karakteri	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Satır Aralıkları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Başlıklar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Sayfa Numaraları	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Eklerin Yerleştirilmesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Tabloların Yerleştirilmesi	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	
Kaynaklar	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	

DANIŞMAN ONAYI

Unvanı Adı Soyadı: Prof. Dr. Mehmet CANSEV

İmza:

İÇİNDEKİLER

Dış Kapak	
İç Kapak	
ETİK BEYAN	II
KABUL ONAY	III
TEZ KONTROL BEYAN FORMU	IV
İÇİNDEKİLER	V
TÜRKÇE ÖZET	VII
İNGİLİZCE ÖZET	VIII
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Bronkopulmoner Displazi (BPD).....	3
2.2. BPD Patofizyolojisi.....	5
2.2.1. Normal Akciğer Gelişimi.....	5
2.2.2. BPD Patolojisi.....	6
2.3. BPD İnsidansı.....	7
2.4. BPD Etiyolojisi.....	8
2.4.1. Prematürite.....	8
2.4.2. Mekanik Ventilasyon.....	9
2.4.3. Hiperoksi / Oksidan Stres.....	10
2.4.4. İnflamasyon.....	10
2.4.5. Sıvı Yüklenmesi / Patent Duktus Arteriyozus (PDA).....	11
2.4.6. Genetik Faktörler.....	12
2.4.7. Beslenme.....	12
2.5. BPD Tedavi Yöntemleri.....	12
2.5.1. Antenatal Steroid Uygulanması.....	13
2.5.2. Mekanik Ventilasyon.....	14
2.5.3. Oksijen Tedavisi.....	15
2.5.4. Beslenme Tedavisi.....	15
2.5.5. Diüretik Tedavisi.....	16
2.5.6. Bronkodilatör Tedavisi.....	16
2.5.7. Antiinflamatuvar Tedavi.....	17
2.5.8. Nitrik Oksit.....	17
2.6. Sürfaktan.....	17
2.6.1. Sürfaktanın yapısı ve İşlevi.....	18
2.6.1.1. Sürfaktan Proteinleri.....	18
2.6.1.1.1. Hidrofilik Proteinler.....	18
2.6.1.1.2. Hidrofobik Proteinler.....	19
2.6.1.2. Sürfaktan Lipidleri.....	19
2.7. CDP-kolin.....	20
2.7.1. CDP-kolin'in Sentezi.....	20

2.7.2. CDP-kolin'in Metabolizması	21
2.7.3. CDP-kolin'in Dağılımı	23
2.7.4. CDP-kolin'in Metabolitleri	24
2.7.4.1. Kolin	24
2.7.4.2. Sitidin ve Üridin	25
2.7.5. CDP-kolin'in Etkileri	25
3. GEREÇ ve YÖNTEM	27
3.1. Hayvanlar	27
3.2. Hiperoksik Akciğer Hasarı Modeli	27
3.3. Deney Grupları	27
3.3.1. Enjeksiyon Yapılan Gebe Sıçan Grupları	27
3.3.2. Yenidoğan Deney Grupları	29
3.4. İlaçların Uygulanması	30
3.5. Fosfolipid Analizi	30
3.6. Western Blot Protokolü	31
3.7. Doku Hazırlığı	32
3.7.1. Radial Alveolar Sayım	32
3.8. İstatistiksel Analiz	32
4. BULGULAR	33
4.1. Yenidoğan Sıçanların Ağırlıkları	33
4.2. Fosfolipid Analiz Sonuçları	33
4.2.1. Total Fosfolipid Analiz Sonuçları	33
4.2.2. Fosfolipid Fraksiyonlarından PC Analizi Sonuçları	34
4.3. Western Blot Sonuçları	35
4.4. Radial Alveolar Sayım Sonuçları	37
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	39
6. KAYNAKLAR	43
7. SİMGELER ve KISALTMALAR	54
8. TEŞEKKÜR	55
9. ÖZGEÇMİŞ	56

TÜRKÇE ÖZET

Bronkopulmoner Displazi (BPD), preterm doğumun en sık görülen komplikasyonlarından biridir. Günümüzde antenatal betametazon, prematüre doğum ihtimali olan gebelere uygulanarak yenidoğanlarda ortaya çıkacak BPD hasarının önlenmesi amaçlanmaktadır. Ancak maternal steroid uygulaması bazı vakalarda yetersiz kalmakta ve alternatif tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır. Fosfolipid sentezinde ortaya çıkan endojen bir molekül olan CDP-kolin'in, hiperoksiye maruz kalan yenidoğan sıçanlarda akciğer fosfolipid miktarını arttırdığı ve alveolarizasyonu düzelttiği bilinmektedir. Ancak, prenatal dönemde gebeye uygulanan CDP-kolin'in yenidoğan döneminde hiperoksik akciğer hasarı üzerine olan etkisi henüz incelenmemiştir. Ayrıca CDP-kolin'in bu modeldeki muhtemel etkinliği maternal steroid tedavisi ile kıyaslanmamış ve steroidle birlikte CDP-kolin uygulamasının etkileri değerlendirilmemiştir.

Bu bilgiler ışığında maternal CDP-kolin uygulamasının hiperoksik akciğer hasarına maruz bırakılan yenidoğanlarda akciğer maturasyonu üzerine olan etkisinin ilk kez araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmamızda gebe Sprague-Dawley sıçanlar gruplarına ayrılarak betametazon ve/veya CDP-kolin enjeksiyonları yapılmıştır. Doğumdan sonra ise yavru sıçanlar hiperoksiye maruz bırakılarak hiperoksik akciğer hasarı oluşturulmuş ve annelerin aldığı betametazon ve/veya CDP-kolin tedavilerinin yavru sıçanlarda akciğer fosfolipid düzeyi, apoptotik hücre ölümü ve alveolarizasyon üzerine olan etkileri değerlendirilmiştir.

Çalışmamızın sonuçları prenatal dönemde uygulanan CDP-kolin tedavisinin hiperoksik akciğer hasarı oluşturulan yenidoğan sıçan akciğer dokusunda total fosfolipid ve fosfatidilkolin düzeylerini artırdığını, apoptotik süreci baskıladığını ve alveolarizasyonu artırdığını göstermiştir. Ayrıca betametazon ile kombine edilen CDP-kolin tedavisinin bu ilaçların tek başlarına uygulanmasına göre akciğer fosfolipid düzeylerini anlamlı olarak daha fazla artırmış ve apoptotik hücre ölümünü daha kuvvetli baskılamıştır. Bu bulgular prenatal dönemde betametazon ile kombine edilen CDP-kolin tedavisinin yenidoğan hiperoksik akciğer hasarını daha etkin bir şekilde iyileştirme potansiyeli barındırdığına ve BPD'nin klinik tedavisinde betametazon ile CDP-kolin kombinasyonunun daha yararlı olabileceğine işaret etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bronkopulmoner displazi, betametazon, CDP-kolin, fosfolipid, yenidoğan sıçan

İNGİLİZCE ÖZET

Investigation of Possible Effect of Maternal CDP-choline Treatment on Newborn Rat Lung Maturation

Bronchopulmonary Dysplasia (BPD) is one of the most common complications in preterm birth. Currently, BPD in newborns can be prevented by antenatal betamethasone injection to pregnant women having the risk of preterm birth. However, maternal steroids are inadequate in some cases and alternative treatments are required. CDP-choline, an endogenous compound formed during phospholipid synthesis, was shown to enhance phospholipid levels and alveolarization in newborn rats subjected to hyperoxic lung injury. However, the effect of CDP-choline on hyperoxic lung injury in newborns when applied to pregnant rats during prenatal period has not yet been investigated. Additionally, the potential effect of CDP-choline has not been compared with that of a steroid and the effect of CDP-choline and steroid combination has not been evaluated.

In the light of this information, we aimed to investigate CDP-choline's effect by maternal administration on lung maturation in newborns with hyperoxic lung injury for the first time in the literature. Pregnant Spraque-Dawley rats were grouped to receive betamethasone and/or CDP-choline injections. Pups born to these dams were then subjected to hyperoxic lung injury to investigate the effect of maternally-administered betamethasone and/or CDP-choline on lung phospholipid levels, apoptotic cell death and alveolarization.

We found in our study that prenatal administration of CDP-choline enhanced the levels of total phospholipids and phosphatidylcholine, improved alveolarization, and it reduced apoptotic cell death in newborns subjected to hyperoxic lung injury. In addition, lung phospholipid levels were greater and apoptotic cell death was potently reduced in newborns whose dams received the combination of betamethasone and CDP-choline, compared to the administration of these agents alone. These findings show that the combination of betamethasone and CDP-choline provides greater benefit in reducing newborn hyperoxic lung injury and suggest the clinical utility of this combination in newborns with BPD.

Key Words: Bronchopulmonary Dysplasia, betamethasone, CDP-choline, phospholipid, newborn rat

1. GİRİŞ

Bronkopulmoner Displazi (BPD), preterm doğumun en sık görülen uzun dönem komplikasyonlarından biri olarak kısa ve uzun dönem etkileri ile prematüre bebeklerde morbidite ve mortalitenin majör sebeplerindendir (Bhandari ve McGrath, 2013). BPD gelişimi karmaşık ve multifaktöriyel bir süreçtir. BPD oluşumunda etkili risk faktörleri prematürite, mekanik ventilasyon, hiperoksi, inflamasyon, antenatal faktörler, sıvı yüklenmesi, genetik etkiler ve beslenmedir. Son zamanlarda yapılan bir çalışmada BPD insidansı (tanı kriteri olarak postmenstrüel 36 hafta kullanıldığında) %42 (doğum ağırlığı= 501-750 gr), %25 (doğum ağırlığı= 751-1000 gr), %11 (doğum ağırlığı= 1001-1250 gr) ve %5 (doğum ağırlığı= 1251-1500 gr) olarak bulunmuştur (Fanarof ve ark., 2007). BPD'li hastaların %97'sini doğum ağırlığı 1250 gramdan düşük bebekler oluşturmaktadır (Walsh ve ark., 2006).

BPD tedavisi, nutrisyonel destek, sıvı kısıtlaması, ilaç tedavileri, oksijen tedavisi ve enfeksiyon tedavisi gibi durumları kapsamaktadır. Tedavide esas amaç altta yatan major patofizyolojiyi düzeltmektir. Pulmoner ödem varlığında diüretikler, bronkokonstriksiyon ve havayolu hiperreaktivitesi varlığında bronkodilatatörler, inflamasyon varlığında steroidler, kor pulmonale varlığında vazodilatatörler, kronik akciğer hasarı varlığında antioksidanlar, çeşitli nütrisyonlar şeklinde tedaviler uygulanmaktadır (Morley ve ark., 2008). BPD ortaya çıkmadan önce ise prenatal dönemde müdahale etme şansı bulunmaktadır. Günümüzde antenatal steroid (betametazon), 23.-34. gestasyonel hafta (GH) arasında prematüre doğum eylemi olma ihtimali olan gebelere uygulanmak suretiyle yenidoğanlarda ortaya çıkacak BPD'nin önlenmesi amaçlanmaktadır. Ancak maternal steroid uygulaması bazı vakalarda yetersiz kalmaktadır ve alternatif tedavilere ihtiyaç duyulmaktadır.

CDP-kolin veya sitikolin, yapısal olarak riboz, sitozin, pirofosfat ve kolin gruplarını içeren nükleotid yapıda bir bileşiktir. Vücutta endojen olarak üretilen CDP-kolin, hücre membranının yapısına katılan fosfolipidlerin sentezi esnasında ara metabolit olarak ortaya çıkar.

Eksojen olarak uygulanan CDP-kolin'in hem kendisinin hem de metabolitlerinin asetilkolin sentezi, kolinerjik sistem aktivasyonu ve membran fosfolipidleri üzerine önemli etkileri bulunmaktadır. CDP-kolin uygulaması sonrasında beyinde fosfotidilkolin (PC), fosfatidilserin (PS) ve fosfatidiletanolamin (PE) gibi önemli membran fosfolipidlerinin sentezinin arttığı gösterilmiştir (Lopez-Coviella ve ark., 1995). Ayrıca CDP-kolin'in fosfolipaz A₂ enzim aktivasyonunu inhibe ederek PC yıkımını azalttığı, böylece membran bütünlüğünü koruduğu da gösterilmiştir (Arrigoni ve ark., 1987).

Yakın zamanda yapılan bir çalışmada hiperoksik akciğer hasarına maruz bırakılan yenidoğan sıçanlara uygulanan CDP-kolin'in fosfolipid düzeylerini artırdığı, proinflamatuvar sitokin seviyelerini azalttığı, alveolarizasyonu düzelterek akciğer morfolojisine katkı sağladığı ve apoptotik süreci baskılayarak akciğer hasarının derecesini azalttığı gösterilmiştir (Çetinkaya ve ark., 2013).

Bu çalışmanın amacı ise gebelik sırasında anneye yapılan CDP-kolin uygulamasının aynı modeldeki muhtemel etkinliğini değerlendirmektir. Çalışmada CDP-kolin'in etkinliği steroid (betametazon) uygulaması ile kıyaslanmış ve ayrıca CDP-kolin ile betametazon kombinasyonunun bu tedavilerin tek başlarına olan etkinliğine üstünlüğü incelenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bronkopulmoner Displazi

BPD, preterm doğumun en sık görülen uzun dönem komplikasyonlarından biridir. Perinatoloji ve neonatolojideki gelişmelere rağmen, BPD kısa ve uzun dönem etkileri ile prematüre bebeklerde morbidite ve mortalitenin majör sebeplerinden biri olmaya devam etmektedir (Bhandari ve McGrath, 2013).

Klasik BPD ilk olarak 1967 yılında Northway ve arkadaşları tarafından 30. - 37. GH'da doğan prematüre bebeklerin ağır Respiratuar Distres Sendromu (RDS) nedeniyle yüksek konsantrasyonlu oksijen ve yüksek basınçlı uzamış mekanik ventilasyon ile tedavi edilmesiyle ortaya çıkan klinik, radyolojik ve patolojik değişiklikler olarak tanımlanmıştır (Northway ve ark., 1967). Pusey ve ark. RDS'nin BPD için gerekli prekürsör olmadığını göstermiş ve yenidoğanlarda uzamış mekanik ventilasyon ile ilişkili yaygın intersitisyel fibroplaziyi tanımlamıştır (Pusey ve ark., 1969). Bancalari ve ark. en az üç gün süreyle mekanik ventilasyon alan ve oksijen ihtiyacı 28 günden uzun süren, artmış solunum eforu ve akciğer radyolojik bulguları olan yenidoğanlarda gelişen solunum yetmezliği olarak BPD'yi yeniden tanımlamıştır (Bancalari ve ark., 1979).

Perinatal ve neonatal alandaki teknolojik gelişmeler, giderek yaygınlaşan non-invaziv ventilasyon uygulamaları ve antenatal steroid tedavisi yanında 1990'lı yıllardan sonra klinikte kullanılmaya başlayan surfaktan replasman tedavileri sonucunda daha küçük GH (24. – 28. hafta) ve doğum ağırlığına sahip prematüre bebeklerde ortaya çıkan tablo “Yeni BPD” veya “Kronik Akciğer Hastalığı” olarak tanımlanmıştır (Bancalari ve ark., 2003).

Epidemiyolojik, klinik ve histopatolojik özelliklerinde farklılıklar olması nedeniyle BPD'nin esas olarak tanımlanması 2001 yılında Amerikan Ulusal Halk Sağlığı Enstitüleri, National Institute of Child Health and Human Development (NICHD), National Heart, Lung and Blood Institute (NHLB), Office of Rare Disease

(ORD) tarafından yapılan çalıştayda yayımlanan kriterlere göre yapılmaktadır (Tablo 1). Kronik akciğer hastalığı terimi yenidoğan dönemi dışında tüm yaş gruplarındaki akciğer hastalıklarını da içerdiğinden ve hem epidemiyolojik hem de etyopatogenik açıdan yenidoğan döneminde görülen bu tablo diğer yaş gruplarından farklı olduğundan tanımlamada “Bronkopulmoner Displazi” teriminin kullanılması gerektiği bildirilmiştir (Jobe ve Bancalari, 2001).

Buna göre BPD tanımlaması 32. gebelik haftasının altında ve üstünde doğan bebekleri ayrı ayrı sınıflandırarak yapılmaktadır. Çoğunlukla aşırı düşük doğum ağırlıklı 1000 g’ın altındaki prematüre bebeklerde, ilk zamanlarda klinik derecesi ne olursa olsun; RDS’si olup olmamasına bakılmaksızın doğumda gestasyon yaşı <32 hafta olan prematüre bebekler için postmenstrüel 36. haftada ve GH \geq 32 olan prematüre bebekler için postnatal 28. günde veya eğer daha erken gerçekleşirse taburculuk zamanında devam eden \geq %21 O₂ gereksinimi olarak tanımlanmıştır (Jobe ve Bancalari, 2001).

Yeni BPD gelişen pretermelerde, ilk başta düşük oksijen konsantrasyonu ve düşük basınç ile ventilasyona ihtiyaç duyan hafif solunum hastalığını izleyen, minimal ya da bazen hiç oksijen ihtiyacının olmadığı kısa süren “balayı” da denen geçici iyilik dönemi görülmektedir. Birkaç gün veya birkaç hafta süren mekanik ventilasyon sonrasında akciğer fonksiyonlarında ileri düzeyde bozulma ve solunum yetmezliğine ek olarak ventilasyon desteği ve oksijen ihtiyacının arttığı bir durum ortaya çıkmaktadır (Rojas ve ark., 1995). Radyolojik bulgular geç ortaya çıkarken, hafif olgularda yaygın puslu görünüm saptanmaktadır (Sarıcı, 2006). Ağır olgularda ise akciğer periferine uzanan kaba dansiteler, homojen olmayan görünüm ve aşırı havalanma alanları izlenmektedir (Kinsella ve ark., 2006).

Tablo 1. Bronkopulmoner displazi tanımı ve sınıflaması

	Gebelik Yaşı <32 hafta En az 28 gün \geq %21 O ₂ gereksinimine ek olarak	Gebelik Yaşı \geq32 hafta En az 28 gün \geq %21 O ₂ gereksinimine ek olarak
Değerlendirme Zamanı	PM 36. haftada veya taburculuk sırasında (hangisi daha erkense)	>28. gün - <56. gün veya taburculuk sırasında (hangisi daha erkense)
Hafif BPD	Ek O ₂ gereksinimi yok	Ek O ₂ gereksinimi yok
Orta BPD	<%30 ek O ₂ gereksiniminin olması	<%30 ek O ₂ gereksiniminin olması
Ağır BPD	\geq %30 O ₂ gereksinimi ve/veya pozitif basınç (PBV veya nCPAP) gereksinimi	\geq %30 O ₂ gereksinimi veya pozitif basınç (PBV veya nCPAP) gereksinimi

PM: Postmenstrüel; PBV: Pozitif basınçlı ventilasyon; nCPAP: Nazal pozitif hava yolu basıncı

2.2. BPD Patofizyolojisi

2.2.1. Normal Akciğer Gelişimi

Prenetal akciğer gelişimi beş döneme ayrılır ve bu gelişim postnatal dönemde de devam eder (Coalson, 2003) (Şekil 1).

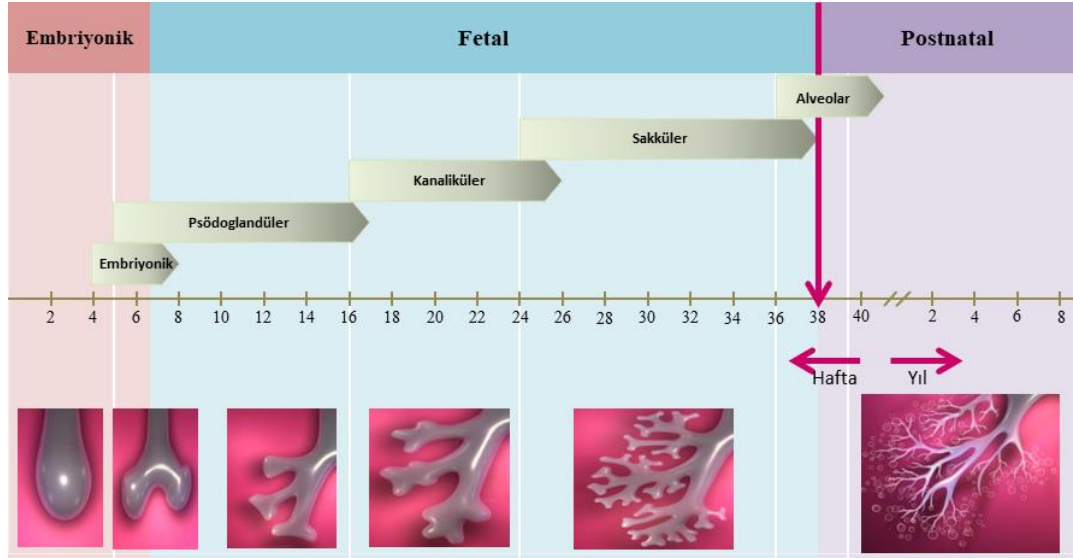
1. Embriyonik dönem (Konsepsiyon sonrası 26. gün ile 7. GH arası): Primordial önbarsaktan köken alan ventral divertikül, proksimal trakeayı oluşturmak için kaudale doğru uzanır ve trakeadan sonra dallanıp ana bronşları meydana getirir. Bu dönemde büyüme faktörleri önemli düzenleyici etkilere sahiptir.

2. Psödoglandüler dönem (7. – 16. GH arası): Havayolu terminal bronşioelleri oluşturmak üzere gelişir ve solunumsal epitelyal hücrelerin oluşumu belirgindir.

3. Kanaliküler dönem (16. – 26. GH arası): Bronşioeller oluşur. Özellikle vasküler endotel büyüme faktörü (VEGF) etkisi ile mezenkim damarlanması artar. Epitel hücrelerin tip I ve II pnömositlere farklılaşması tamamlanır.

4. Sakküler dönem (Üçüncü trimester veya 26/28 – 32/36 GH arası): Pulmoner parankimin boyutlarının arttığı bu dönemde surfaktan sistemi olgunlaşır ve apoptotik ve anti-apoptotik proteinlerin dengesiyle hava boşlukları arasında yer alan bağ dokusu incelir.

5. Alveolar dönem ve mikrovasküler matürasyon (32. – 36. GH'da başlar, doğumdan sonra da devam eder): Sakküler dönemde mevcut olan primer septanın üzerinde sekonder krestin belirmesiyle alveoller oluşmaktadır. Gelişmemiş olan alveolar septanın çift kapiller tabakası tek tabakaya dönüşerek mikrovasküler gelişim gerçekleşir. 32. GH'da olgun alveollerle karşılaşılsa da tüm alveollerin olgunlaşması 36. GH itibariyle olmaktadır.



Şekil 1. Akciğer gelişim evreleri. Bu şekil www.embryology.ch adresinden uyarlanmıştır.

2.2.2. BPD Patolojisi

BPD'nin klasik patolojik özellikleri surfaktan tedavisinin kullanıma girmesinden önceki döneme ait olup, trakeobronşial ağacın her düzeyinde (bronş, bronşiol, alveol, vasküler yatak) bozukluklar görülmekteydi. Bronş, bronşiol ve alveolar bölgede alveolar septanın yıkımı, inflamasyon ve fibroproliferasyon gözlenirken, bronş ve bronşiol etrafında müsküler ve submukozal bez hiperplazisi ile mukozal skuamöz metaplazi görülmektedir. Vasküler yatakta ise endotelial hücre hiperplazisi, müsküler hipertrofi ve azalmış arteriol sayısı göze çarpmaktadır (D'Angio ve Maniscalco, 2004).

Yeni BPD tanımı ile birlikte, günümüzde BPD nedeni ile ölen pretermelerde fibrozis az belirgin olup, havalanma alanlarının tüm akciğerde eşit dağılım gösterdiği bildirilmiştir. Büyük ve küçük havayollarında fibrozis, düz kas hipertrofisi ve epitelyal metaplazi daha az izlenmektedir. Buna rağmen, septasyonda aksama ve sakküler dönemde duraklama görülmekte, az sayıda ilkel ve büyük boyutta alveollerin olması ise alveolar döneme geçememeyi işaret etmektedir (Jobe ve Bancalari, 2001). Klasik ve yeni BPD'nin patolojik farklılıkları Tablo 2'de özetlenmiştir.

BPD ortaya çıkan ve sonrasında kaybedilen pretermelerin otopsilerinde iki farklı durum öne çıkmaktadır. İlki, yoğun interstisyel fibrozis ile karakterizedir ve havayollarında anormallik gözlenmez. Bronşiolar tip adı verilen ikinci tipte ise

peribronşiol fibrozis, havayolu duvarlarında belirgin kalınlaşma, alveolar hipoplazi, havayolu düz kas kitlesinde artış, pulmoner vasküler “remodeling”, ve amfizem vardır. Her iki tipte de alveol duvarında fibroproliferasyon, fibrozise bağlı kalınlaşma ve artmış interstisyel matriks bulunur. Hayvan deneylerinde bu değişikliklerin hiperoksik akciğer hasarına bağlı olabileceği bildirilmiştir. Örneğin yeni doğmuş sıçanlar yüksek oksijen konsantrasyonuna maruz bırakıldıklarında, düz kaslarda ve alveolar epitelde kalınlaşma, interstisyel matrikste ve miyofibroblastlarda artış olmaktadır (Aladağ, 2006).

Tablo 2. Eski ve Yeni Bronkopulmoner Displazi arasındaki patolojik farklılıklar

Eski Bronkopulmoner Displazi	Yeni Bronkopulmoner Displazi
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Değişken atelektazi ve aşırı havalanma alanları ❖ Şiddetli hava yolu epitelyal lezyonları (hiperplazi, skuamoz metaplazi) ❖ Hava yolu düz kas hiperplazisi ❖ Belirgin damarsal lezyonlar ❖ Aşırı fibroproliferasyon ❖ Azalmış iç yüzey alanı ve alveol sayısı 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Daha az şiddetli arteryal / arteriolar damar lezyonları ❖ Değişen derecelerde hava yolu düz kas hiperplazisi ❖ Az ve dismorfik kapillerler ❖ Değişen derecelerde interstisyel fibroproliferasyon ❖ Az, geniş ve basit yapıda alveoller

2.3. BPD İnsidansı

Prenatal bakımdaki gelişmelerle birlikte klasik ya da ciddi BPD insidansı oldukça azalmıştır. Artan bilgi ve gelişen teknoloji ile birlikte, yaşatılan prematüre sayısındaki artışa bağlı olarak BPD oranları da yüksek seyretmektedir. BPD insidansı GH ve doğum ağırlığı ile ters orantılıdır.

BPD insidansı, her merkezde izlenen yenidoğanların risk durumları farklı olduğundan veya aynı hastalığın tedavisinde merkezler arasında farklı protokoller uygulanmasına bağlı olarak merkezden merkeze farklılık gösterdiğinden BPD'nin gerçek insidansını belirlemek güçtür. Ayrıca insidans BPD'nin tüm yenidoğanlarda, sağ kalanlarda veya sadece mekanik ventilasyon alanlarda yapılmış olmasına göre de literatürde değişik oranlarda verilmiştir. Ancak NICHD çok merkezli bir çalışma yaparak, 500-1500 gr doğum ağırlığına sahip ve postkonsepsiyonel 36. haftada oksijen ihtiyacı devam eden prematürelere BPD sıklığını %3-43 arasında bildirmiştir (Lemons ve ark., 2001).

Son zamanlarda yapılan bir çalışmada BPD insidansı (tanı kriteri olarak PM 36. hafta kullanıldığında) %42 (doğum ağırlığı= 501-750 gr), %25 (doğum ağırlığı= 751-1000 gr), %11 (doğum ağırlığı= 1001-1250 gr) ve %5 (doğum ağırlığı= 1251-1500 gr) olarak bulunmuştur (Fanarof ve ark., 2007). BPD'li hastaların %97'sini doğum ağırlığı 1250 gramdan düşük bebekler oluşturmaktadır (Walsh ve ark.,2006).

Ülkemizde BPD insidansı; Dokuz Eylül Üniversitesi'nden %2 (Duman ve ark., 2003), İnönü Üniversitesi'nden %4,2 (Gülcan ve ark., 2004), Ankara Üniversitesi'nden %10,5 (Atasay ve ark., 2003) olarak bildirilmiştir.

Fakültemizde BPD sıklığı, Köksal ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada %30-35 arasında belirtilmiştir. Bu çalışmada BPD sıklığı literatürle uyumlu olarak, gebelik yaşı ve doğum ağırlığı ile ters orantılı bulunmuştur (Köksal ve ark., 2009).

2.4. BPD Etiyolojisi

BPD gelişimi karmaşık ve multifaktöriyel bir süreçtir. BPD oluşumunda etkili risk faktörleri aşağıda özetlenmiştir.

2.4.1. Prematürite

Yenidoğan, annenin son adet tarihinden sonraki 37 ile 42 hafta arası doğduğunda term ifadesi kullanılır. Dünya sağlık örgütüne göre son adet tarihinin ilk gününden itibaren 259 gün ya da 37. GH'nın tamamlanmasından önce doğan bebekler de preterm olarak adlandırılır. Prematüre ve preterm sözcükleri eş anlamlı kullanılmaktadır. Pretermiler gestasyon yaşına göre de 3 gruba ayrılmıştır:

1. İleri derece preterm (<28 hafta)
2. Orta derece preterm (28-<32 hafta)
3. Sınırdaki preterm (32-<37 hafta)

Neonatolojideki hızlı ilerlemelerle birlikte 28 hafta olan viabilite sınırı 24 haftaya düşmüştür.

Pretermiler doğum ağırlığına göre sınıflandırıldığında, <2500 gr olanlar düşük doğum ağırlıklı (DDA), <1500 gr olanlar çok düşük doğum ağırlıklı (ÇDDA) ve <1000 gr olanlar ise aşırı düşük doğum ağırlıklı (ADDA) pretermiler olarak 3 grupta incelenebilir.

Etiyolojide en önemli risk faktörü akciğer immatüresidir. Embriyonel dönemde akciğer gelişimi gebeliğin 3. haftasında ön bağırsağın endodermal hücrelerinden başlar. Bu dönemde alveolar epitelyal hücrelerden salgılanan VEGF vasküler yapılanmayı uyarırken, transforme edici büyüme faktörü β (TGF β) akciğer morfogenezinde inhibitör etkiye sahiptir (Clark, 2001; Minoo, 2000).

Akciğer gelişim evrelerinden kanaliküler dönem riskli bir dönemdir. Kanaliküler dönem ve öncesinde (<26-28 hafta) pulmoner hipoksi akciğer morfogenezini bozarak, akciğer gelişiminin hatalı tamir mekanizmaları ile birlikte oluşmasına neden olur. Bunun sonucunda alveolar septasyon tamamlanamaz ve alveolar progenitörler tersiyer (silindirik) sakküllere bölünemediği için alveol sayısı azalır ve pulmoner hipoplazi benzeri bir durum ortaya çıkar. Sakküler dönem ve sonrasında (>26-28 hafta) oluşan pulmoner hipoksi, akciğer zedelenmesi ve akciğer rejenerasyonunda alveolar yapıda basitleşme ve alveol hipoplazisi ile sonuçlanan daha hafif bir patoloji ortaya çıkar (Sarıcı, 2006).

2.4.2. Mekanik Ventilasyon

Mekanik ventilasyon sırasında gelişen barotravma veya volutravma akciğer doku hasarında önemli etkenlerden biridir. Mekanik ventilasyon uygulamasının surfaktan eksikliği olan akciğerlerde hasara neden olduğu gösterilmiştir. Bu bulgular yüksek basınç ve yüksek volümün akciğerlerde inflamatuvar reaksiyonu başlatabileceğini göstermektedir (Banks-Randall ve Ballard, 2005).

Baro / volutravma, akciğer kapiller endotel, bazal membran, alveoller ve hava yollarında gerilme sonucu endotelyal hasara ve pulmoner damar direncinde artışa neden olarak nötrofillerin pulmoner dolaşımında tutulmasına ve inflamatuvar mediatörlerin salgılanmasına yol açar. Endotel zedelenmesi, damar geçirgenliğinde ve akciğer sıvısında artışa neden olmaktadır (Jobe ve Bancalari, 2001). Hayvan modellerindeki çalışmalarda, mekanik ventilasyonun proinflamatuvar süreci başlatarak, alveolar lavaj sıvısında granülositlerin sayısını artırdığı gösterilmiştir (Carlton ve ark., 1997).

Preterm bebeklerde yüksek frekanslı ossilasyonlu ventilasyon (HFOV) [hava yollarına pozitif basınç uygulanırken bu basınca eklenen yüksek frekanslı (3-8 Hz) titreşimler] ile geleneksel mekanik ventilasyon yöntemleri karşılaştırıldığında her iki

ventilasyon uygulamasının da benzer proinflamatuvar yanıt oluşturduğu sonucuna varılmıştır (Thome ve ark., 1998). Doğum odasında entübe edilmeden erken nCPAP uygulaması yapılan bebeklerde BPD sıklığı daha az bulunmuş, ancak bu durum randomize çalışmalarla kanıtlanamamıştır (Carlo, 2011).

2.4.3. Hiperoksi / Oksidan Stres

Yüksek konsantrasyonlu oksijen ve serbest oksijen radikalleri BPD gelişiminde önemli risk faktörlerinden biridir (Bancalari, 2002). Yüksek oksijen konsantrasyonuna maruz kalan prematüre bebekler diğer yaş gruplarıyla karşılaştırıldığında dezavantajlı olarak reaktif oksijen - reaktif nitrojen ürünlerinin artmış olduğu ve bunun sonucunda oksidan stresin de arttığı sonucuna varılmıştır (Jobe ve Bancalari, 2001).

Prematüre bebeklerin antioksidan savunma mekanizmaları tam gelişmemiştir (Chakraborty ve ark., 2010). Süperoksit dismutaz ve katalaz antioksidan sistemleri henüz gelişmediği için prematüreler oksijen toksisitesine bağlı hasarlanmaya daha yatkındırlar (Clark ve ark., 2001). Hiperoksi, reperfüzyon ve inflamasyon sonucunda ortaya çıkan serbest oksijen radikalleri [O_2^- (süperoksit anyon), H_2O_2 (hidrojenperoksit) ve OH^- (hidroksil radikali)] lipid peroksidasyonu, protein oksidasyonu ve DNA hasarına yol açmakta, ayrıca surfaktan sentezini de azaltarak yaygın doku hasarına neden olmaktadır (Rodriguez-Capote ve ark., 2006). Hiperoksi, apoptotik hücre ölümünü artırmakta ve distal hava yollarındaki dallanmayı geciktirmektedir (Dieperink ve ark., 2006). Sonuç olarak prematür bebeklerde aşırı oksijen maruziyeti sonucu oluşan serbest oksijen radikallerinin proinflamatuvar etkisi ile akciğerler zarar görmektedir (Clark ve ark., 2001).

2.4.4. İnflamasyon

Pulmoner ve sistemik enfeksiyonlar, yüksek konsantrasyonlu oksijen uygulaması ve mekanik ventilasyon olgunlaşmamış akciğerde inflamasyonu tetiklemektedir. İnflamasyon sonucunda da pretermelerde alveolizasyon ve akciğerin normal vasküler gelişimi bozulmaktadır (Speer, 2003). Prenatal enfeksiyonlardan korioamnionit ve postnatal enfeksiyonlardan sepsis, nekrotizan enterokolit (NEK) gibi durumlar BPD gelişimi için bir risk faktörüdür. BPD gelişen hastalarda

korioamnionit varlığında amniotik sıvıda ve kanda interlökinlerden IL-1 β , IL-6, IL-8 ve TNF- α seviyelerinin arttığı gösterilmiştir (Muhumuza ve ark., 2004; Thompson ve Bhandari, 2008).

Akciğer inflamasyonunda, nötrofiller ve makrofajlar kritik öneme sahiptir. Mekanik ventilasyon sonrasında alveolar nötrofiller ön planda iken, daha sonra alveolar makrofajlar ön plana geçmektedir (Li ve Tullus, 2002). Bronkoalveolar sıvıdaki nötrofillerin artışı akciğer ödeminin derecesi ile uyumlu olup, BPD gelişimi için erken dönemde belirteç olabileceği gösterilmiştir (Carlton ve ark., 1997). Sitokin salınımı ile karşılaşan akciğerde, pulmoner inflamatuvar cevap sonrası anormal yara iyileşmesi, fibrozis ve sonuçta alveolarizasyon ve vasküler gelişimin inhibisyonu ile BPD oluşur (Speer, 2001).

BPD ile ilişkili kemokinlere bakıldığında, monosit kemoatraktan proteinler (MCP-1, MCP-2 ve MCP-3) ve makrofaj inflamatuvar proteinler (MIP-1 alfa, MIP-1 beta) dikkat çekmektedir (Bose ve ark., 2008). Korioamnionit ile ilişkili *Ureaplasma urealyticum* gibi havayolunun infeksiyöz ajanlarla kolonizasyonu ve hava yolu sekresyonunda MCP-1 düzeyinin artmış olması peretermlerde BPD riskini artırmaktadır (Baier ve ark., 2001).

İnflamasyon ve özellikle TNF- α ve IL-1 gibi sitokinlerin, surfaktanın fonksiyonunu inhibe eden proteinlerin alveollerden sızarak surfaktan bileşenlerini direkt (Rimensberger, 2002), ya da dolaylı olarak azalttığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Kobayashi ve ark., 1991).

2.4.5. Sıvı Yüklenmesi / Patent Duktus Arteriyozus (PDA)

Akciğerin sıvı dengesindeki değişiklikler BPD oluşumuna katkıda bulunmaktadır. PDA pulmoner kan akımını ve interstisyel akciğer ödeminin arttırarak akciğer kompliyansının azalmasına ve havayolu direncinin artmasına sebep olur. Bunun sonucunda akciğer fonksiyonu ve gaz alışverişi olumsuz yönde etkilenerek BPD riski ortaya çıkmaktadır (Clyman, 2013). Ayrıca PDA ile birlikte pulmoner kan akımının artması mekanik ventilasyon ihtiyacını arttırmakta, lökosit aktivasyonu ve birikimi ile inflamasyonu uyarmaktadır (Bancalari, 2002). PDA'dan bağımsız olarak yaşamın erken döneminde aşırı sıvı alan ve fizyolojik diürezis geciken RDS'li

prematüre bebeklerde BPD riskinin yüksek olduğu gösterilmiştir (Spitzer ve ark., 1981; Van Marter ve ark., 1990).

2.4.6. Genetik Faktörler

BPD gelişiminde genetik yatkınlıkla ilgili çalışmalar yapılmasına rağmen henüz kesin bir mekanizma ortaya konmamıştır. BPD gelişiminde alveologenezi etkileyen büyüme faktörleri, sitokinler, reseptörler, ligandlar, transkripsiyon faktörleri, sinyal molekülleri ve matrix proteinlerini kodlayan genlerdeki bir sorundan kaynaklanabileceği düşünülmekte ve araştırmalar devam etmektedir (Pietrzyk ve ark., 2013). Genetik faktörlerden, cinsiyet ve ırk farklılıkları, Surfaktan Protein-B geninde intron4 bölgesindeki polimorfizm ve Surfaktan Protein-C genindeki otozomal dominant mutasyonların BPD varlığı ile ilişkili olduğu bulunmuştur (Hallman ve Haataja, 2003; Makri ve ark., 2002).

2.4.7. Beslenme

Beslenme BPD'nin gelişiminde önemli rol alır. Bazı araştırmacılar, yenidoğan döneminde beslenme kısıtlamasına maruz kalan yenidoğan farelerde somatik büyüme, akciğer hacmi ve kiloda bir düşüş gözlemişlerdir (Das, 1984; Kalenga ve ark., 1995). Ayrıca aç bırakılmış yenidoğan sıçanlarda alveol ve akciğer iç yüzey alanlarının toplam sayısının önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (Frank ve Groseclose, 1982).

BPD etiyopatogenezinde A vitamini eksikliği de oldukça önemlidir. BPD gelişen bebeklerde A vitamini seviyeleri daha düşük bulunmuştur (Dani ve Poggi, 2012).

2.5. BPD Tedavi Yöntemleri

BPD tedavisinde amaç altta yatan major patofizyolojiyi düzeltmektir. Günümüzde BPD tedavisinde kullanılan uygulamaların çoğu bulguların azaltılmasına yönelik olup, hastalığı ortadan kaldırmamaktadır. Uygun mekanik ventilasyon teknikleri, oksijen tedavisi, vazodilatörler, bronkodilatatörler, diüretikler, postnatal steroidler, nitrik oksit ve antioksidan tedavilerinin yanında beslenme üzerine de tedaviler kullanılmaktadır. Tedavi yöntemlerinin bazı yan etkileri

olduğundan, BPD'li bebeklerin tedavi şekilleri hastalığın şiddeti ve bireysel farklılıklar dikkate alınarak belirlenmektedir.

2.5.1. Antenatal Steroid Uygulanması

Fetüsün akciğer gelişimi farmakolojik olarak antenatal steroid kullanımı ile hızlandırılmaktadır. Antenatal steroidler, surfaktan proteinlerinin salınımını, lipojenik enzim aktivasyonunu, iyon ve su transport proteinleri ile elastin ve diğer pek çok proteinin salıverilmesini uyarır. Ayrıca siklik adenozin monofosfat artışı ile tip II alveol hücrelerinin farklılaşmasını ve surfaktan lipidleri ile surfaktan protein A ve B'nin üretimini de uyarır (Gross ve Ballard, 2004).

Erken doğum tehdidi olan gebelere antenatal steroid uygulaması sonucunda bebeklerde RDS sıklığı ve mortalitenin azaldığı ilk kez 1972 yılında bildirilmiştir (Liggins ve Howie, 1972). Sonraki yıllarda RDS'nin önlenmesinde steroidlerin etkinliği ve güvenilirliği üzerinde pek çok çalışma yapılmıştır. Ulusal Sağlık Enstitüsü (NIH)'nün ilk kez 1994 ve en son 2000 yılında yayınlanan rehberlerinde, erken doğum tehdidi olan 24. - 34. gebelik haftasındaki gebelere, fetüsün cinsiyeti, ırkı ve postnatal surfaktan tedavisi olasılığına bakılmaksızın, doğumdan önceki yedi gün içinde, tek kür antenatal steroid verilmesi önerilmiştir (NIH, 1994, 2000).

Meta-analizler, antenatal steroid uygulamasının RDS riskini azalttığını, ancak bu etkinin, uygulamadan 24 saat sonra başlayıp, sonraki yedi gün boyunca etkili olduğu bildirilmiştir. Yine antenatal steroidlerin mortaliteyi azalttığı, tek kür uygulamanın maternal veya fetal yan etkiye neden olmadığı, intraventriküler kanama ve NEK riskini de azalttığı gösterilmiştir (Crowley, 1995; Roberts ve Dalziel, 2006).

Fetal akciğer olgunlaşması için etken madde olarak deksametazon ve betametazon kullanılmaktadır. Gözlemsel çalışmalarda deksametazon kullanılan gebelerin bebeklerinde kistik periventriküler lökomalazi (PVL) riskinin arttığı gösterilmiş olsa da, son yayınlanan meta-analize göre deksametazon kullanımı ile intraventriküler kanamanın daha az olduğu, bu durumda hangi etken maddeyi içeren steroid preparatının seçileceği ile ilgili önerinin yapılamayacağı bildirilmiştir (Baud ve ark., 1999; Brownfoot ve ark., 2008; Jobe ve Soll, 2004).

Antenatal steroid kürünün tekrarı ile ilgili belirsizlik halen sürmektedir. İlk kürden 7 gün sonrasında, erken doğum riski süren gebeye tekrarlanan dozların,

doğumdan sonraki ilk haftada RDS riskini azalttığı, ancak bu bebeklerin daha düşük doğum ağırlığı ile doğduğu, erken çocukluk döneminde ise herhangi bir faydasının olmadığı bildirilmiştir (Crowther ve ark., 2011).

Sonuç olarak, Amerikan Kadın Doğum Doktorları Birliği (ACOG)'nin 2011 yılı rehberinde antenatal steroid uygulamaları ile ilgili şunlar önerilmektedir (ACOG Committee, 2011):

Kullanılacak steroid preparatlarından,

-Betametazon (12 mg), intramüsküler, 24 saat ara ile iki doz veya

-Deksametazon (6 mg), intramüsküler, 12 saat ara ile dört dozda uygulanması,

24. - 34. gebelik haftalarında, yedi gün içinde erken doğum riski olan gebelere tek kür antenatal steroid uygulanması,

32. gebelik haftasından önce erken membran rüptürü olan gebelere, RDS riski, perinatal mortalite ve diğer morbiditeleri azaltmak için tek kür antenatal steroid uygulanması,

32^{6/7} gebelik haftasının altında, önceki steroid kürünün üzerinden iki haftadan fazla zaman geçmişse ve bir hafta sonrasında doğumun gerçekleşeceği düşünülüyorsa, bir kür daha kurtarıcı antenatal steroid uygulanabileceğidir.

2.5.2. Mekanik Ventilasyon

BPD önlenmesi ve tedavisindeki en önemli uygulama ventilasyon stratejileridir. Yeterli solunum çabası olmayan ve resüsitasyon ihtiyacı olan prematüre bebeklerde BPD'nin doğum salonunda uygulanan ilk pozitif basınçla başladığı bilinmektedir. Doğum salonunda mekanik ventilasyon sonucu barotravma, volutravma, atelektotravma ve surfaktan inaktivasyonunun en aza indirilebilmesi için ölçülebilen ekspiryum sonu pozitif basınç (PEEP) ve CPAP uygulaması en uygun ve kanıt değeri yüksek yaklaşım olarak değerlendirilmektedir (Morley ve ark., 2008).

CPAP uygulaması diğer mekanik ventilasyon tekniklerine göre daha nazik, daha az invaziv olduğundan BPD'yi azaltabileceği düşünülmektedir (Narendran ve ark., 2003). Bazı araştırmacılar solunum yetersizliği olan prematüre bebeklerde önce

ekzojen surfaktan tedavisinin uygulanmasını, daha sonra CPAP ile devam edilmesini önermektedirler.

PBV gereken yenidoğanlarda oksijen toksisitesini önlemek ve baro/volutravmayı azaltmak için kan gazları monitörize edilerek, hedeflenen kan gazı değerleri pH 7.25-7.45, PaO₂ 60-80 mmHg ve PaCO₂ 45-65 mmHg aralığında olmalıdır (Atıcı ve Özkan, 2011).

2.5.3. Oksijen tedavisi

Ventilasyon ve perfüzyon dengesinin bozulmasına bağlı olarak alveolar hipoksemi sonucu BPD gelişmektedir. Akciğerin vasküler gelişimi bozularak, akciğer perivasküler alanların oksijen miktarı azalır. BPD'li bebeklerde alveolar hipoksemi sonucu pulmoner arter basıncı artar ve pulmoner hipertansiyon, kor pulmonale ve sağ ventrikül yetmezliği görülürken, somatik gelişim ve beyin gelişiminin yavaşladığı bildirilmiştir (Nievas ve Chernick, 2002).

Güncel uygulama yöntemi nazal kanül ile bebek uyanırken arteriyel oksijen saturasyonu (SaO₂) %90-95 arasında olacak şekilde oksijen verilmesi yönündedir (Poets ve Southall, 1994). Eğer bebekte klinik ve ekokardiyografik pulmoner hipertansiyon bulguları varsa, o zaman SaO₂ %95-96 arasında olmalıdır (Albertine ve ark., 1999). Oksijen tedavisi kesildikten sonra yeterli kalori alımına rağmen ilerleyen haftalarda hastanın kilo alımı %20'den daha fazla azalıyor veya duruyorsa, anlamlı intermittan hipokseminin güçlü bir kanıtı olarak düşünülmesi ve oksijen tedavisi yeniden başlatılmalıdır (Poets ve Southall, 1994).

2.5.4. Beslenme Tedavisi

Pretermelerde besin yetersizliği akciğer gelişimini ve tamir mekanizmalarını olumsuz etkilemektedir. Yetersiz protein ve enerji alımı, artmış katabolizma, solunum iş yükünün fazlalığı ve beslenme intoleransı gibi enteral beslenme sorunlarını da beraberinde getirmektedir (Dani ve Poggi, 2012). Prematürelere yeterli enerji miktarının 110-135 kcal/kg/gün olması gerektiği bildirilmiştir (Agostoni ve ark., 2010). BPD'li pretermelerde ise enerji ihtiyacı artarak 140-150 kcal/kg/gün olması gerektiği vurgulanmıştır (Denne, 2001). Preterm bebeklerde

yeterli büyümenin sağlanabilmesi için ek besinler, protein ve yağ asitleri ile destek sağlanmalıdır (Carlo ve Ambalavanan, 2011).

Preterm bebeklerde A vitamini seviyeleri düşüktür (Dani ve Poggi, 2012). A vitamini verilen pretermelerde BPD gelişiminin %17 oranında azaldığı bildirilmiştir (Kennedy ve ark., 1997). Preterm bebeklere intramusküler olarak uygulanan A vitamini oral olarak verildiğinde BPD insidansını azaltmada fayda sağlamadığı gösterilmiştir (Wardle ve ark., 2001).

2.5.5. Diüretik Tedavisi

BPD'li pretermelere normal veya fazla miktarda sıvı yüklemesi yapıldığında bunu tolere etmekte güçlük çekerler. Böyle durumlarda bebeklere kısa süreli diüretik tedavisi uygulanarak, sıvı yüklemesi sonucu meydana gelen pulmoner ödem azaltılabilir. Klinikte diüretik olarak kullanılan furosemid 1 mg/kg/doz i.v. olarak günde iki kez ya da 2 mg/kg/doz tek seferde oral olarak uygulanmaktadır. Pretermelerin sıvı tedavisinde, sıvı ve tuz kısıtlamasına gidilmeli, ancak büyüme için gerekli enerji ve metabolik ihtiyaçlar için de yeterli miktarda sıvı alımı sağlanmalıdır (Bancalari, 2011). Uzun süreli diüretik kullanımı da bazı sıkıntıları beraberinde getirmektedir. Fazla diüretik kullanımı sonrası hiponatremi, hipokalemi, hipokalsemi, alkaloz, azotemi, hiperkalsiüri gibi yan etkiler ortaya çıkmaktadır (Carlo ve Ambalavanan, 2011).

2.5.6. Bronkodilatör Tedavisi

BPD'li pretermelerde havayolu hiperreaktivitesi ve havayolu düz kaslarında hipertrofi görülmektedir. Bronkodilatör uygulaması ile bronşial düz kas hücreleri gevşetilerek hava yolu direnci azaltılabilir. Beta 2 agonistlerden albuterol, hipertansiyon ve taşikardi gibi yan etkilerine rağmen klinikte sıklıkla kullanılmakta ve etkisini 4-6 saat içinde göstermektedir. Antikolinergik ilaç olarak en sık kullanılan ipratropiyum bromid'dir. Bu iki ilacın birlikte kullanımı, tek başlarına olan etkilerinden daha etkilidir ve yan etki profili de azdır (Carlo ve Ambalavanan, 2011). Sistemik kullanılan metilksantinlerden teofilin ve kafein, bronkodilatasyon ile birlikte solunumun uyarılması, hafif diüretik etki ve antiinflamatuvar etkilere de sahiptir (Millar ve Schmidt, 2004).

2.5.7. Anti-inflamatuar Tedavi

Postnatal glikokortikoid kullanımı ilk zamanlarda BPD insidansını azaltmış olsa da uzun dönemde istenmeyen yan etkiler oluşturduğu gerekçesiyle rutin uygulamadan kalkmıştır (Shah ve ark., 2003). BPD tedavisinde sistemik olarak sadece 3 haftadan sonra ve kısa süreli tedavi şeklinde uygulanması önerilmektedir. Neden olduğu nörogelişimsel gecikmenin erken ve uzun süreli kullanımdan kaynaklandığı düşünülmektedir (Tin ve Wiswell, 2008).

2.5.8. Nitrik Oksit Tedavisi

Nitrik oksit (NO) vazodilatasyon özelliği ile sistemik kan basıncını düşürmeden pulmoner damar direncini azaltarak oksijenizasyona katkıda bulunur (Christou ve Brodsky, 2005). Düşük dozda inhale verildiğinde akciğer fonksiyonu ve oksijenizasyon üzerine akut etkisi bulunmamaktadır. Ancak ağır BPD'li prematürelere oksijenizasyonunu artırarak FiO₂ ve ventilasyon ihtiyacını azaltmaktadır (Carlo ve Ambalavanan, 2011).

2.6. Surfaktan

Yüzey gerilimini büyük ölçüde azaltan yüzey aktif maddelere surfaktan (Surface Active Agent) denilmektedir. Surfaktan solunum yollarındaki yüzey gerilimini azaltan bir lipid protein kompleksidir. Pulmoner surfaktanla ilgili ilk düşünceler Avery ve Mead'in RDS'li pretermelerin akciğer ekstraktlarında surfaktan bulamadıklarını bildirmeleriyle başlamıştır (Avery ve Mead, 1959). Bu durum RDS'li bebeklere dışarıdan alveolar yüzey gerilimini azaltan maddelerin verilmesine neden olmuştur. Surfaktan ve özellikle hayvan kaynaklı doğal surfaktanlar bu dönemde keşfedilmiştir. Doğal surfaktanla yenidoğanda ilk tedavi 1980 yılında Fujiwara ve ark. tarafından uygulanmıştır (Fujiwara ve ark., 1980). İsveçli iki araştırmacı Cursted ve Robertson 1970'li yılların sonunda doğal surfaktan elde ederek 1983 yılında 10 RDS'li bebeğe uyguladıklarında olumlu sonuç aldıklarını rapor etmişlerdir (Robertson ve ark., 1992).

Solunumun devam edebilmesi için, her bir nefes alış verişte alveol yüzeyinde oluşan basınç farkının düşürülmesi gerekir. Akciğer surfaktanı her döngüde alveol

ara yüzeyine kısa sürede adsorbe olarak yüzey gerilimini azaltır ve böylece solunumun sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesini sağlar (Creuwels ve ark., 1997).

Memeli akciğerlerinin iç kısmında gaz alışverişi için gerekli yüzeyi sağlayan alveoller iki tip hücreden meydana gelirler. Bunlar tip I ve tip II pnömositlerdir. Tip I pnömositler ince yapıda olup alveol yüzeyinin %96'sını kaplarlar ve gaz alışverişinden sorumludurlar. Tip II pnömositler ise özellikle surfaktan gibi fonksiyonel maddeler üreterek alveol yüzeyine salgırlar, bu sayede sıvı-gaz tabakası oluştururlar.

Hem pulmoner surfaktan hem de elastik ve kollajen dokusal faktörler benzer etkiler göstererek ekspirasyon sırasında alveollerin kollabe olmasını engeller ve inspirasyon sırasında aşırı genişlemeyi önler (Bachofen ve ark., 1979).

2.6.1. Surfaktanın Yapısı ve İşlevi

Surfaktan lipoprotein yapıda bir maddedir. Surfaktan %80-90 lipid, %10-12 protein ve %2 karbonhidrat yapısındadır. Surfaktanın yaklaşık yarısını dipalmitoilfosfatidilkolin (DPPC; lesitin) oluşturur ve görevi yüzey geriliminin azaltılmasıdır. Diğer bir içeriği fosfatidil gliserol ise surfaktanın alveoller boyunca yayılmasını ve dağılmasını sağlar (Halliday, 2006; 2008; Stevens ve ark. 2007). Surfaktan proteinleri (SP); SP-A, SP-B, SP-C ve SP-D olmak üzere 4 spesifik proteinden oluşur.

2.6.1.1. Surfaktan Proteinleri

Surfaktanın yapısında iki tip protein vardır: hidrofilik SP (Surfaktan Protein) - A ve SP-D; hidrofobik SP-B ve SP-C proteinleri (Haagsman ve Diemel, 2001). Boyut olarak daha büyük olan SP-A ve SP-D proteinleri suda çözünebilen glikoproteinlerdir ve bağışıklık sisteminde görev almaktadırlar. SP-B ve SP-C proteinleri ise, daha küçük boyutta polipeptitlerdir ve yüksek derecede hidrofobiktirler.

2.6.1.1.1. Hidrofilik Proteinler

Hidrofilik proteinler olan SP-A ve SP-D, memeli lektinlerinin alt grubu olan kolektin grubuna aittir.

SP-A proteini, yüzey geriliminin düşürülmesinde direk rol almasa da, film oluşumunun ve yüzey aktivitesinin düzenlenmesinde görev almaktadır (Schürch ve ark., 1992). SP-A proteininin en önemli görevi yapısında akciğer yüzey aktif madde karışımını içeren tübüler miyelin yapısının oluşumuna katkıda bulunmaktır. SP-A eksikliği olan farelerde yapılan çalışmalarda, alveol sıvısında tübüler miyelin benzeri yapıların görüldüğü ancak bu yapıların geçici oldukları ve stabil olmadıkları belirlenmiştir (Korfhagen ve ark., 1996).

Diğer bir protein olan SP-D' nin sadece bir kısmı (<%10) surfaktan içindeki fosfolipidlere bağlıdır ve SP-D üretimi sadece akciğere özgü değildir. Bu yüzden tam olarak surfaktan proteinlerinden sayılmamaktadır (Persson ve ark., 1989). SP-A ile birlikte bağışıklık sisteminde görev almaktadır (Creuwels ve ark., 1997).

2.6.1.1.2. Hidrofobik Proteinler

Hidrofobik proteinler SP-B ve SP-C proteinleridir. Her iki protein de fosfolipidlerin hava-sıvı arası yüzeye tek tabaka halinde adsorbsiyon ve yayılma hızını artırmada önemli roller üstlenirler. Yüzey gerilimini düşürmede SP-B, SP-C'den daha etkilidir (Curstedt ve ark., 1987; Wang ve ark., 1996).

2.6.1.2. Surfaktan Lipidleri

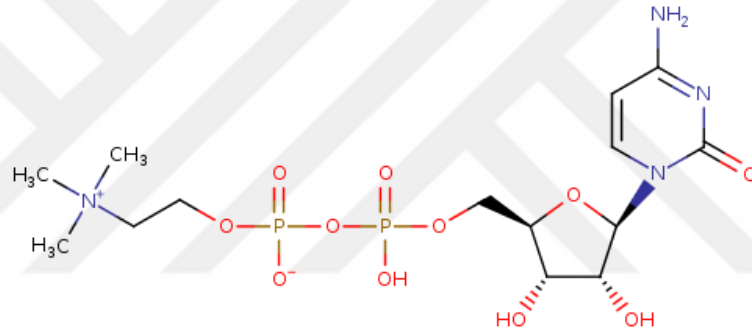
Akciğer yüzey aktif madde karışımındaki lipidlerin büyük bir kısmını fosfolipidler oluşturmaktadır. Bir fosfolipid olan PC'nin toplam lipid karışımında kütlece oranı %70 - %80'e yakındır ve bu oranın yaklaşık yarısını doymuş bir lipid olan dipalmitilfosfatidilkolin (DPPC) oluşturmaktadır (Perez – Gil ve Serrano, 2006). Lipid karışımında PC'nin yanı sıra yaklaşık %8 – 10 oranında anyonik olan fosfatidilgliserol (PG), %3 – 5 oranında fosfatidiletanolamin (PE), %2 - 3 oranında fosfatidillinositol (PI) ve toplam %2'den daha az miktarda fosfatidilserin (PS), lizofosfatidilkolin ve sfingomiyelin (SM) bulunmaktadır. Ayrıca nötral yapıda bulunan bir lipid olan kolestrol, lipid yüzdesinin önemli bir kısmını oluşturmakta ve dinamik koşullarda surfaktan karışımının yapısı ve fonksiyonu için önem teşkil etmektedir (Creuwels ve ark., 1997; Frerking ve ark., 2001).

Memelilerde akciğer surfaktan karışımının kütlece neredeyse 2/3'ünü oluşturan fosfolipidlerin, en baskın ve önemli bileşeni DPPC molekülüdür. DPPC akciğer

hava–sıvı ara yüzeyine hidrofobik zincirleri gaz fazına doğru yönelmiş, hidrofilik baş grubu ise sıvı fazda olacak şekilde adsorbe olmaktadır. Baş grubunun çift kutuplu yapısından dolayı DPPC amfoterik yapıdadır ve net yükü sıfırdır (Frerking ve ark., 2001).

2.7. CDP-kolin

CDP-kolin veya sitikolin, yapısal olarak riboz, sitozin, pirofosfat ve kolin gruplarını içeren nükleotid yapıda bir bileşiktir. Birbirine difosfat köprüsüyle bağlı sitidin ve kolin moleküllerinden oluşmaktadır (Şekil 2). Molekül ağırlığı 488,32 g/mol olup yüksek miktarda nem çekmesi ve polar molekül olması nedeniyle kolayca suda çözünme özelliğine sahip bir bileşiktir. Vücutta endojen olarak üretilen CDP-kolin, hücre membranının yapısına katılan fosfolipidlerin sentezi için gereklidir.



Şekil 2. CDP-kolin'in molekül yapısı.

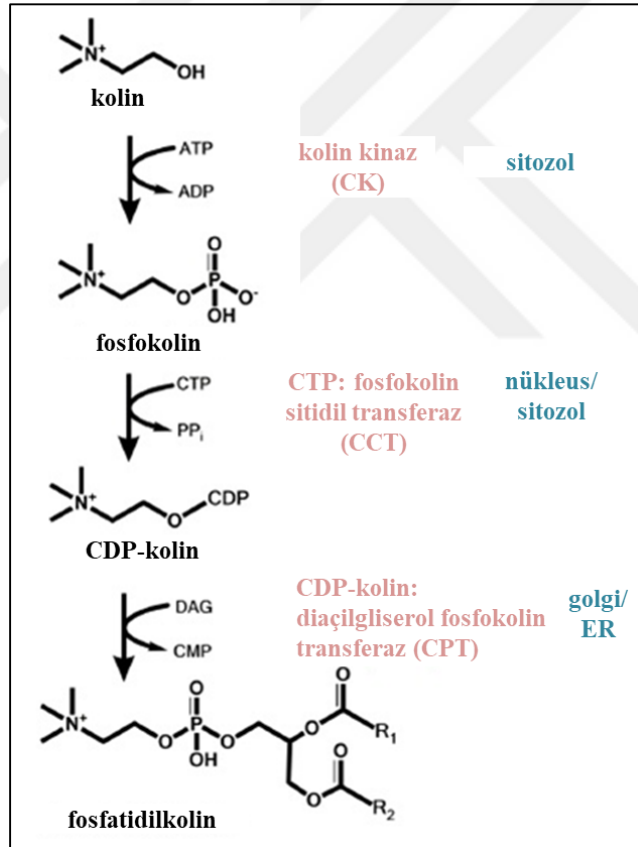
2.7.1. CDP-kolin'in Sentezi

CDP-kolin, Kennedy ve Weiss tarafından 1956'da "Kennedy Yolağı" olarak tanımlanan, hücre membranında kolinden PC yapımına uzanan üç basamaklı sentez yolunun hız kısıtlayıcı basamağında bir ara ürün olarak sentezlenir (Kennedy ve Weiss, 1956; Weiss, 1995) (Şekil 3).

Kennedy yolağının birinci basamağında, kolin kinaz enziminin katalizlediği geri dönüşlü bir reaksiyonla kolin, bir molekül ATP varlığında fosforile olarak fosfokoline dönüşür. Kennedy yolağının hız kısıtlayıcı basamağı da olan ikinci basamakta, fosfokolin sitidil transferaz (CCT) enzimi aracılığıyla fosfokolin ve sitidin-5'-trifosfat (CTP) reaksiyona girerek CDP-kolin sentezlenir. Son olarak üçüncü basamakta da 1,2-diaçilgliserol kolin fosfotransferaz (CPT) enziminin

katalizlediği bir reaksiyonla, CDP-kolin'in fosfokolin grubu diaçilgliserole aktarılarak PC sentezi gerçekleşir. Endojen CDP-kolin miktarını arttırmaya yönelik kolin, sitidin, orotik asit gibi ön tedavilerle ya da doğrudan CDP-kolin verilmesiyle PC sentezinde artış sağlanabilmektedir (Haines ve Tokmakjian, 1987; Lopez-Coviella ve ark., 1995; Savcı ve Wurtman, 1995).

Kennedy yolu, sentez edilen PC'nin büyük bir kısmından sorumlu olsa da, PC sentezi için tek yol değildir. Bu yolağın dışında PC'nin sentez edilmesinde az da olsa yer alan ve karaciğerde meydana gelen “fosfatidiletanolamin metilasyonu” yolu ve PS ile PE serin ve etalonamin gruplarının serbest kolin ile yer değiştirmesiyle meydana gelen “baz değişim yolu” vardır.



Şekil 3. Kennedy yolu aracılığı ile CDP-kolin sentezi. ATP: Adenozin trifosfat, CTP: Situdin trifosfat, DAG: Diaçilgliserol.

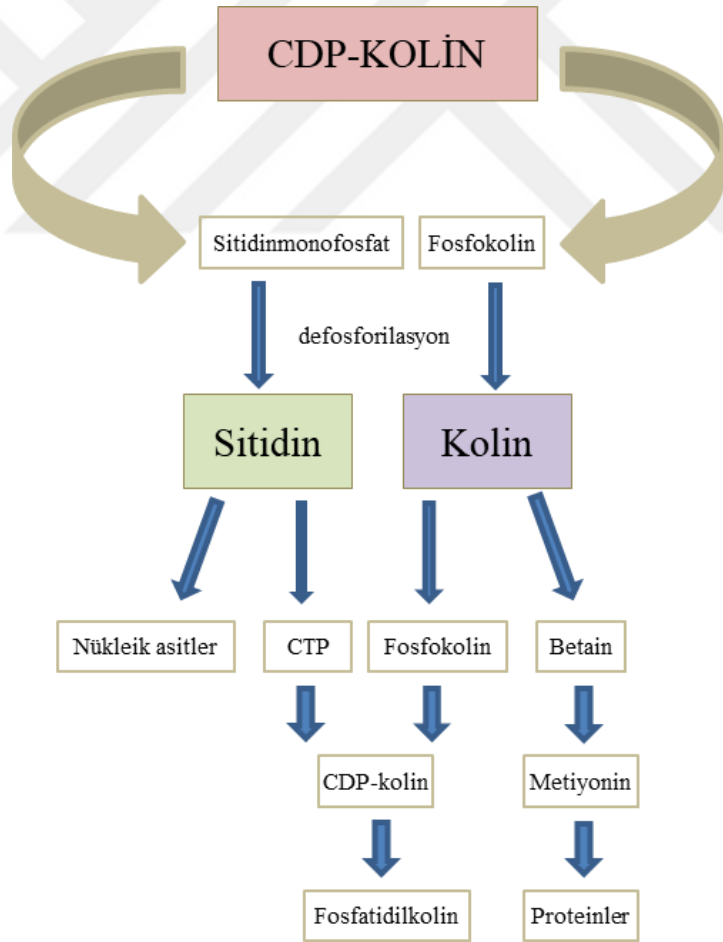
2.7.2. CDP-kolin'in Metabolizması

Barsak ve karaciğerde metabolize olan CDP-kolin vücuda alındığında hücre membranında bulunan fosfodiesterazlar tarafından hızla sitidinmonofosfat ve

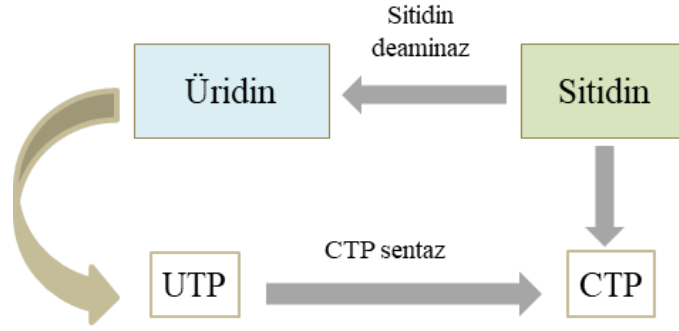
fosfokoline hidroliz olur. Bu iki molekülün defosforilasyonu sonucu CDP-kolinin aktif metabolitleri olan sitidin ve kolin oluşur (Floridi ve ark., 1981) (Şekil 4).

Sitidin ve kolin hücre içine alınarak CDP-kolin'in yeniden sentezlenmesini sağladıkları gibi, aynı zamanda kendilerine ait etkilere de aracılık ederler.

CDP-kolin'in metabolizması bazı türler arasında farklılık göstermektedir. Sıçanlarda CDP-kolin verilmesi sonrası dolaşımda kolin ve sitidin artarken (Lopez-Coviella ve ark., 1995), insanlarda ve gerbillerde muhtemelen sitidin deaminaz enzim aktivitesindeki farklılık nedeniyle, sitidin hızla üridin'e dönüşür. Bu nedenle insanlarda ve gerbillerde CDP-kolin verildikten sonra dolaşımda sitidin yerine üridin artışı saptanmıştır (Cansev ve Wurtman, 2005; Wurtman ve ark., 2000). İnsanda sitidin beyinde üridin fosfata dönüştürülür ve daha sonra nöronal seviyede sitidin trifosfata çevrilir (Secades, 2011) (Şekil 5).



Şekil 4. CDP-kolin'in metabolizması. CTP: Sitidin trifosfat.



Şekil 5. İnsanlarda Sitidin Metabolizması. CTP: Sitidin trifosfat, UTP: Üridin trifosfat.

2.7.3. CDP-kolin'in Dağılımı

CDP-kolin büyük ve polar bir bileşik olduğundan kan-beyin bariyerini geçişi oldukça zordur ve periferik yoldan verilen dozun yaklaşık %0,25'inin beyin dokusuna geçebildiği gösterilmiştir (Galletti ve ark., 1991). Sıçanlara oral yoldan verilen ^{14}C işaretli CDP-kolin'in biyoyararlanımının yaklaşık olarak %95 olduğu gösterilmiştir (Paroni ve ark., 1985).

Sıçanlara intravenöz (iv) yolla uygulanan ^{14}C ve 5- ^3H işaretli CDP-kolin'in, enjeksiyondan sonra ilk 2 dakika içinde plazmada %10'undan daha azına rastlanmıştır. Uygulamayı takiben 48 saat içinde böbreklerden elimine olan kısmı ^{14}C işaretli CDP-kolin için %2,5 iken, 5- ^3H işaretli CDP-kolin için %6,5'tir. Bu sonuçlar CDP-kolin'in hızlı bir şekilde dokulara difüze olduğunu ve aktif olarak kullanıldığını göstermektedir. Enjeksiyondan sonraki 0,5., 1., 4. ve 48. saatte beyindeki radyoaktivite seviyelerine bakıldığında, deney başlangıcında ^3H işaretli sitidin nükleotidlerinin konsantrasyonundaki artış yerini nükleik asitlere bırakırken, yine başlangıçta ^{14}C işaretli betain, kolin ve fosforilekolin miktarındaki artıştan 4 saat sonra ^{14}C işaretli nükleik asit, metionin ve fosfolipidlere rastlanmıştır. 48 saatin sonunda radyoaktivitenin fosfolipidlerde ve proteinlerde yoğunlaştığı gözlenmiştir (De Rosa M ve ark., 1985; Galletti ve ark., 1985). Başka bir çalışmada ^{14}C işaretli CDP-kolin oral yolla verilerek radyoaktivite izlenmiş, 30 dk sonra midede büyük oranda CDP-kolin, barsakta ise daha çok kolin ve sitidin fraksiyonları olduğu gösterilmiştir (Yashima ve ark., 1975).

¹⁴C ile işaretli CDP-kolin'in kullanıldığı farmakokinetik çalışmalar CDP-kolin'in iki fazlı bir eliminasyona sahip olduğunu göstermiştir. İşaretli CDP-kolin oral veya intravenöz yoldan uygulandığında, radyoaktivite, üriner, fekal ve ekspire olan CO₂ yoluyla çok yavaş elimine edilir (Dinsdale ve ark., 1983).

2.7.4. CDP-kolin'in Metabolitleri

2.7.4.1. Kolin

Yapılan çalışmalarda CDP-kolin uygulaması sonrası oluşan etkilerin büyük bir kısmının metabolitleri aracılığı ile meydana geldiği gösterilmiştir. Kolin esansiyel bir besin maddesi olup balık, yumurta, yerfıstığı, buğday gibi besinlerle alınabilir. Gıdalarla alındığında barsaklardan kolaylıkla emilir ve kan-beyin bariyerini geçebilir. Özellikle beyin gelişiminde ve hipokampus fonksiyonlarında önemli rolü bulunmaktadır (Zeisel, 1997; Zeisel, 2004).

Kolin'in vücuda alındıktan sonraki işlevleri üç ana başlık altında toplanabilir (Ulus ve Cansev, 2010):

1) Kolin, asetilkolin prekürsörüdür ve yüksek dozlarda asetilkolin reseptörleri ile etkileşime girerek kolinerjik nörotransmisyonu uyarıcı etki gösterir.

2) Kolin, tüm hücrelerde membranın temel yapı taşı olan PC ve SM gibi fosfolipidlerin sentezinde kullanılan çok önemli bir maddedir.

3) Kolin vücutta en önemli metil donörüdür. Metionin ve s-adenosilmetionin rejenerasyonu için gerekli metil guruplarının vericisi olan betaine metabolize olarak bu görevini yerine getirmektedir.

Kolin, asetilkolinin hem prekürsörü hem de yıkım ürünüdür. Dolaşımda kolin miktarının artması, kolin'i beyine taşıyan transport sistemlerinin doyurulmamış olması nedeni ile beyindeki kolin düzeylerini artırır. Beyin kolin konsantrasyonunun artması ise asetilkolin sentezinde artışa ve kolinerjik iletinin güçlenmesine neden olmaktadır (Blusztajn ve Wurtman, 1983; Cohen ve Wurtman, 1975; Hirsch ve ark., 1977).

PC akciğer dokusundan izole edilen ve surfaktanın yapısında bulunan başlıca fosfolipiddir (Van Golde, 1976). Normal akciğer dokusunda, kolin dolaşımdan alınır ve PC' ye kolayca dahil edilir (Johnson ve ark. 1979). Kolin eksikliği sırasında, kolinin dolaşımdaki plazma seviyeleri ve akciğer dokusunun kolin içeriği azalırken,

tüm akciğer dokusundaki PC seviyelerinin korunduğu bildirilmiştir (Yost ve ark., 1985).

2.7.4.2. Sitidin ve Üridin

Sitidin ve üridin pirimidin nükleozidleridir. Nükleozidlere eklenen fosfat grubu ile nükleotid molekülleri oluşur ve böylece nükleozidler yıkılmaktan korunurlar. Nükleotidler enerji metabolizmasının önemli elemanlarıdır, koenzimlerin yapısal kısımlarını oluştururlar, metabolik düzenleyici ve sinyal molekülleri olarak görev yaparlar.

Sitidin'in membran fosfolipidlerinden PC sentezi için kolin rezervini artırarak membran fosfolipid sentezini artırdığı sıçan beyin dilimlerinde ve hücre kültürlerinde yapılan çalışmalarla kanıtlanmıştır (G-Coviella ve Wurtman, 1992; Savci ve Wurtman, 1995). Üridin'in de CTP'ye dönüşerek CDP-kolin sentezine katıldığı ve dolaylı yoldan membran fosfolipid sentezine katkıda bulunduğu gösterilmiştir (Richardson ve ark., 2003; Wurtman ve ark., 2000).

2.7.5. CDP-kolin'in Etkileri

CDP-kolin'in hem kendisinin hem de metabolitlerinin asetilkolin sentezi, kolinerjik sistem aktivasyonu ve membran fosfolipidleri üzerine önemli etkileri bulunmaktadır. CDP-kolin uygulaması sonrasında beyinde PC, PS ve PE gibi önemli membran fosfolipidlerinin sentezinin arttığı gösterilmiştir (Lopez-Coviella ve ark., 1995). CDP-kolin'in ayrıca fosfolipaz A₂ enziminin aktivasyonunu inhibe ederek PC yıkımını azalttığı, böylece membran yapısını koruduğu gösterilmiştir (Arrigoni ve ark., 1987).

Bugüne kadar CDP-kolin tedavisini solunum sıkıntısı sendromu olan preterm bebeklerde değerlendiren iki çalışma bulunmaktadır (Colombo ve ark., 1976; Valls i Soler ve ark., 1988). 7 Gün 100 mg/kg dozda parenteral CDP-kolin uygulaması yararlı bir etki göstermezken (Valls i Soler ve ark., 1988), 100-200 mg/kg dozda daha uzun süre uygulandığında solunum zorluğu ve oksijen gereksiniminin ciddiyetini azalttığı bildirilmiştir (Colombo ve ark., 1976). Ayrıca Çetinkaya ve ark. yapmış olduğu çalışmada, yenidoğan sıçanlara 10 gün süreyle 300 mg/kg dozda enjekte edilen CDP-kolin tedavisinin akciğer histolojisini iyileştirdiği, fibrozisi

azalttığı, alveolarizasyonu iyileştirdiği, apoptozisi engellediği ve akciğer fosfolipid miktarlarını artırdığı gösterilmiştir (Cetinkaya ve ark., 2013).

Ekzojen CDP-kolinin plazma ve beyinde kolin ve dolayısı ile asetilkolin düzeylerini arttırdığı (Dixon ve ark., 1997), bunun sonucunda kolinerjik sistemin aktivasyonunu değiştirdiği (Cavun ve Savcı, 2004) bildirilmiştir. CDP-kolin'in kolinerjik sistem aktivasyonu üzerinden kan basıncını arttırdığı saptanmıştır (Arslan ve ark., 1991). CDP-kolin kolinerjik sistem üzerinden endokrin sistem üzerine de etki göstermektedir. CDP-kolin tedavisinin plazma ACTH, TSH, LH ve büyüme hormonu (Growth hormon) (Cavun ve Savcı, 2004), insülin ve katekolamin seviyelerini arttırdığı gösterilmiştir (Cansev, 2003).



3. GEREÇ ve YÖNTEMLER

3.1. Hayvanlar

Çalışmalara Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu onayı alındıktan sonra başlandı (Karar no: 2015-06/04). Gebeliği planlanmış Sprague-Dawley türü sıçanlar 4 gruba ayrıldı. Spontan doğumu takiben yavru sıçanlar anneleri ile tutuldu. Sıçanlar 12 saat aydınlık - 12 saat karanlık döngüsü olan ısı kontrollü (22-24°C) odalarda tutulup, yem ve su alımları serbest bırakıldı.

3.2. Hiperoksik Akciğer Hasarı Modeli

Hiperoksik akciğer hasarı modeli Warner ve ark.'nın yönteminden uyarlandı (Warner ve ark., 1998). Yenidoğan sıçanlar postnatal 1-10. günler arasında pleksiglastan imal edilen kapalı alanda (Resim 1) tutulup deney süresince hiperoksiye (%85-90 oksijen) maruz bırakıldı. Oksijen konsantrasyonu günde üç defa kontrol edildi (MiniOX 3000, Ohio Medical Corporation). Nem oranı %80'in üzerinde tutuldu ve CO₂ soda-lime ile uzaklaştırıldı. Oda havasında (normoksi) (Resim 2) tutulan sıçanlar ile hiperoksiye maruz bırakılan sıçanlar deney süresince aynı odada bulunduruldu. Oksijen toksisitesini önlemek için hiperoksi ve normoksidede tutulan anne sıçanlar 24 saatte bir değiştirildi. Yenidoğan sıçanlar her gün 0,01 gr hassaslıktaki tartı ile tartıldı ve ağırlıkları kaydedildi. Sıçanlar postnatal 11. günde intraperitoneal (i.p.) pentobarbital sodium (200 mg/kg) enjeksiyonu ile öldürüldü.

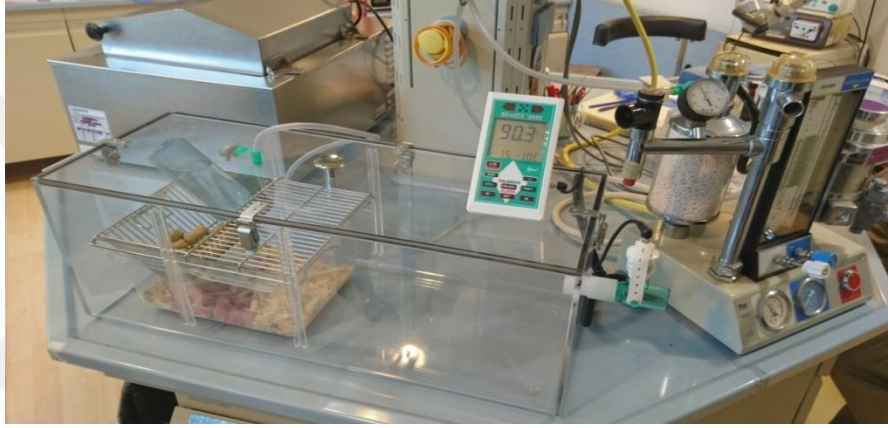
3.3. Deney Grupları

3.3.1. Enjeksiyon Yapılan Gebe Sıçan Grupları

- Anne Grup 1 (Kontrol grubu): Gebeliğin 17., 18. ve 19. günlerinde %0,9 serum fizyolojik (SF) (1 ml/kg) verilen grup.
- Anne Grup 2 (CDP-kolin grubu): Gebeliğin 17., 18. ve 19. günlerinde CDP-kolin (SF içinde çözülmüş 300 mg/kg) verilen grup.

- Anne Grup 3 (Steroid grubu): Gebeliğin 20. gününde betametazon (SF içinde çözülmüş 0,4 mg/kg) verilen grup.
- Anne Grup 4 (CDP-kolin + steroid grubu): Gebeliğin 17., 18. ve 19. günlerinde CDP-kolin (300 mg/kg) ve 20. gününde betametazon (0,4 mg/kg) verilen grup.

Gebe sıçanlar doğum yaptıkları gün (postnatal 0. gün) her bir gruptaki yenidoğan sıçanlardan randomize olarak seçilen sıçanlar postnatal 1. günden 11. güne kadar devam eden deneyde normoksi veya hiperoksiye (%85-90 oksijen) maruz bırakıldılar.



Resim 1. Hiperoksik deney düzeneği.



Resim 2. Normoksida tutulan hayvanlar

3.3.2. Yenidoğan Deney Grupları

1- Kontrol Normoksi Grubu (NSF): Kontrol grubu annelerden doğan ve 10 gün oda havasında izlenen yenidoğan sıçanlar

2- Kontrol Hiperoksi Grubu (HSF): Kontrol grubu annelerden doğan ve 10 gün hiperoksiye maruz bırakılan yenidoğan sıçanlar

3- CDP-kolin Normoksi Grubu (NCDP): CDP-kolin verilen annelerden doğan ve 10 gün oda havasında izlenen yenidoğan sıçanlar

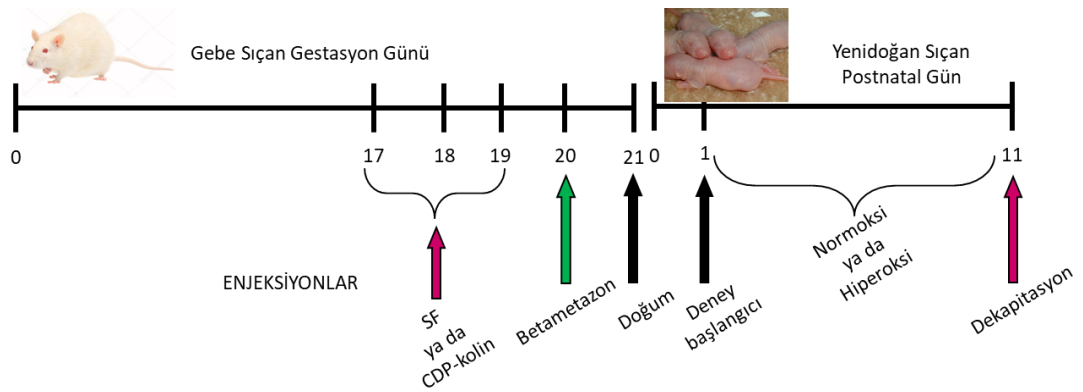
4- CDP-kolin Hiperoksi Grubu (HCDP): CDP-kolin verilen annelerden doğan ve 10 gün hiperoksiye maruz bırakılan yenidoğan sıçanlar

5- Betametazon Normoksi Grubu (NBETA): Betametazon verilen annelerden doğan ve 10 gün oda havasında izlenen yenidoğan sıçanlar

6- Betametazon Hiperoksi Grubu (HBETA): Betametazon verilen annelerden doğan ve 10 gün hiperoksiye maruz bırakılan yenidoğan sıçanlar

7- CDP-kolin + Betametazon Normoksi Grubu (NKOMBO): CDP-kolin ve betametazon verilen annelerden doğan ve 10 gün oda havasında izlenen yenidoğan sıçanlar

8- CDP-kolin + Betametazon Hiperoksi Grubu (HKOMBO): CDP-kolin ve betametazon verilen annelerden doğan ve 10 gün hiperoksiye maruz bırakılan yenidoğan sıçanlar



Şekil 6. Deney akış şeması

3.4. İlaçların Uygulanması

Çalışmamızda gebeliği planlanmış deney hayvanlarına, gebeliğin 17., 18. ve 19. günlerinde SF (1 ml/kg) ya da SF içinde çözdürülen 1 ml/kg volümde CDP-kolin (300 mg/kg) günde 1 kez i.p. olarak enjekte edildi. Betametazon (Celestone Chronodose) 1 ml/kg volümde 0,4 mg/kg dozda olacak şekilde SF içinde dilüe edilerek gebeliğin 20. gününde sıçanlardaki yarılanma ömrü göz önüne alınarak aynı gün içinde 8 saat arayla 2 kez subkutan olarak enjekte edildi.

3.5. Fosfolipid Analizi

Akciğer homojenatlarından fosfolipid ekstraksiyonu Folch metoduna göre (Folch ve ark., 1957), ölçümler ise Lopez-Coviella ve ark.'nın ölçüm yöntemine göre yapıldı (Lopez-Coviella ve ark., 1995). Kısaca, akciğer dokuları 4 ml soğuk PBS içinde homojenize edildikten sonra homojenattan 2 ml alınıp üzerine 2 ml kloroform-metanol (2:1 v/v) karışımı ve 1 ml distile su eklendikten sonra iyice vortekslendi. Karışım bir gece boyunca +4°C'de bekletildi. Örnekler santrifüj edilip (10 dk, 1000xg, +4°C) organik faz (alt) ve sulu faz (üst) olmak üzere iki faza ayrıldı. Üst faz aspire edilip, organik fazdan total fosfolipid ve fosfolipid fraksiyonlarından PC ölçümü için sırasıyla 300 µl ve 1200 µl alındı.

Total fosfolipid analizi için alınan 300 µl örneğin kloroform-metanol çözücüsü uçuruldu ve kuruyan örneklerin üzerine 100 µl %70' lik HClO₄ eklendi. Açık kahverengi renk alan örnekler 150°C'de cam tüplerin üzeri bilye ile kapatılarak 1,5 saat, renkleri berraklaşana kadar kaynatıldı. KH₂PO₄ standartları 1 mM konsantrasyonda hazırlanıp cam tüplere 10, 20, 50, 100, 200 µl pipetlendi ve total volüm distile su ile 200 µl'ye tamamlandı. Örnek ve standartların volümlerini eşitlemek için, örneklerin üzerine 200 µl distile su, standartların üzerine 100 µl HClO₄ eklendi. Bütün tüplere 1 ml distile su, 200 µl %5'lik amonyum molibdat ve 300 µl %15'lik askorbik asit çözeltisi eklenerek 30 dk inkübe ettikten sonra spektrofotometre ile 790 nm'de ölçüm yapıldı.

Fosfolipid fraksiyonlarından PC analizi için ince tabaka kromatografisi yöntemi kullanıldı. 1200 µl örneğin kloroform-metanol çözücüsü uçurulduktan sonra, kuruyan örneğin üzerine 40 µl metanol eklenerek çözünene kadar vortekslendi. Örnekler ve PC standardı üzeri silika kaplı TLC plakalara, alt

kısından 2 cm boşluk kalacak şekilde tatbik edildi. Silika kaplı TLC plakalar, kloroform/etanol/trietilamin /deiyonize su (30:34:30:8) karışımı bulunan tanklarda 2 saat bekletilerek örneklerin yürümesi sağlandı. Yürütme işlemi bittikten sonra plakaların üzerine %0,1 difenilheksatrien içeren petrolium eter, spray ile sıkılarak UV altında fraksiyonların görülmesi sağlandı. PC standardına karşılık gelen bantlar, plaka üzerindeki silika kazınarak cam tüplere alındı. Üzerlerine 1 ml metanol kondu ve lipidlerin metanole geçmesi için 30 dk beklendi. Kısa bir santrifüjden sonra 750 µl'si alınıp kurutuldu. Her örnekteki PC miktarı, total fosfolipid ölçümü ile aynı şekilde ölçüldü.

3.6. Western-Blot Protokolü

Postnatal 11. günde torakotomi sonrası yavru sıçanların her iki akciğeri eksize edilerek -80°C'de saklandı. Analiz yapılacağı gün tüm dokular çıkarılarak 4 ml soğuk PBS içerisinde homojenize edildi. Homojenatlar 5 dk 10.000 rpm'de santrifüj edilerek süpernatant alındı ve analizler burada gerçekleştirildi. Tüm örneklerin total protein miktarı Lowry yöntemine (Lowry ve ark., 1951) göre analiz edildikten sonra 1:1 oranında Laemmli tamponu (Laemmli, 1970) ile karıştırılarak 5 dk 100°C'de kaynatıldı. Her örnekte eşit miktarda protein olacak şekilde yükleme volümleri hesaplandı ve Sodyum Dodesil Sülfat Poliakrilamid Jel Elektrofrezisi (SDS-PAGE; %4-20; Mini Protean II, Bio-Rad, Hercules, CA, ABD) yöntemiyle örnekler yürütüldü. Yürütme aşamasından sonra jeldeki proteinler poliviniliden florür (PVDF) membranlara (Millipore, Billerica, MA, ABD) transfer edildi. Membranlar tris tamponu ve tween 20 (TBST) içinde çözündürülmüş %5 yağsız süt tozu (Carnation, Glendale, CA, ABD) çözeltisi ile 30 dk bloke edildi. Membranlar bloke edildikten sonra TBST ile yıkandı. Analiz edilecek proteinlerin molekül ağırlıkları birbirine yakın olmadığı için membranlar uygun yerden kesilerek primer antikolar ile gece boyu inkübe edildi. Primer antikor olarak anti-tavşan-BAX ve pozitif kontrol anti-fare-β-Actin (1:1000, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, ABD) kullanıldı. Gece boyu inkübasyondan sonra, membranlar TBST ile yıkayıp HRP (Horse radish peroksidaz) ile bağlanmış tavşan anti IgG ve fare anti IgG ikinci antikolar (1:5000, Cell Signaling Technology, Danvers, MA, ABD) ile 1 saat inkübe edildi. Membranlar tekrar TBST ile yıkayıp güçlendirilmiş kemilüminesans solüsyonu

(Millipore, Billerica, MA, ABD) ile inkübe edilerek Licor CDigit tarayıcısı (LI-COR Biotechnology, Lincoln, NE, ABD) ile protein bantları dijital olarak görsel hale getirildi ve görüntüler analiz edildi. Bantların dansitesi Licor CDigit sisteminin yazılımı kullanılarak karşılaştırıldı.

3.7. Doku Hazırlığı

Postnatal 11. günde torakotomi yapılarak her iki akciğer ve kalp görünür hale getirildi. Akciğerler önce SF ve sonra %4 paraformaldehit (PFA) içeren 0,1 mol/l PBS (Phosphate buffer saline) ile 5 cmH₂O sabit basınçta perfüze edildi. Akciğerler tespit için PFA solüsyonu içerisinde 1 gün bekletildikten sonra kriyoprotektan %30'luk sükröz çözeltisine alınarak dokuların dibe inmesi beklendi. Sükröz içerisinden alınan sol akciğer kullanılarak kryostat ile 10 mikron kalınlığında kesitler alındı. Preparatlar hematoksilin-eozin ile boyanarak ışık mikroskopunda incelendi.

3.7.1. Radial Alveolar Sayım

Alveolar gelişimin değerlendirilmesi için kesitlerden alınan dijital görüntüler üzerinde alveolar sayım yapıldı. Respiratuar bronşiyolün merkezinden en yakın bağ dokusu septumuna doğru ve epitele dik olacak şekilde bir çizgi çizildi. Bu çizginin geçtiği alveoller sayıldı.

3.8. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel analiz için SigmaPlot (versiyon 12.5) programı kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmeler için tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve takiben post-hoc Tukey testi kullanıldı. Elde edilen veriler ortalama \pm standart hata şeklinde verildi. İstatistiksel anlamlılığı yansıtan p değeri $<0,05$ seçildi.

4. BULGULAR

4.1. Yenidoğan Sıçan Ağırlıkları

Gruplar arasında, ortalama doğum ağırlıkları açısından farklılık yoktu ($p>0,05$). Deney sonunda hayvan ağırlıklarına bakıldığında hiperoksiye maruz bırakılan hayvanların ağırlıkları, normoksida tutulanlara göre anlamlı şekilde daha düşüktü.

Tablo 3. Deney gruplarının deney öncesi ve sonrası ortalama ağırlıkları

Ağırlık (gr)	NSF n=12	NBETA n=12	NCDP n=12	NKOMBO n=12	HSF n=12	HBETA n=12	HCDP n=12	HKOMBO n=12
P1 Ort	5,91	6,30	6,01	6,06	6,08	6,12	6,00	5,81
P11 Ort	17,03	18,09	18,49	17,63	12,12***	13,94###,γ	14,12###,γ	13,83###,γ

*** $p<0,001$ NSF grubuna göre; ### $p<0,001$ NBETA grubuna göre; +++ $p<0,001$ NCDP grubuna göre; \$\$\$ $p<0,001$ NKOMBO grubuna göre; γ $p<0,05$ † $p<0,01$ HSF grubuna göre.

4.2. Fosfolipid Analizi Sonuçları

4.2.1. Total Fosfolipid Analizi Sonuçları

Akciğer doku homojenatında ölçülen total fosfolipid miktarı gruplar arasında karşılaştırıldığında (Şekil 7);

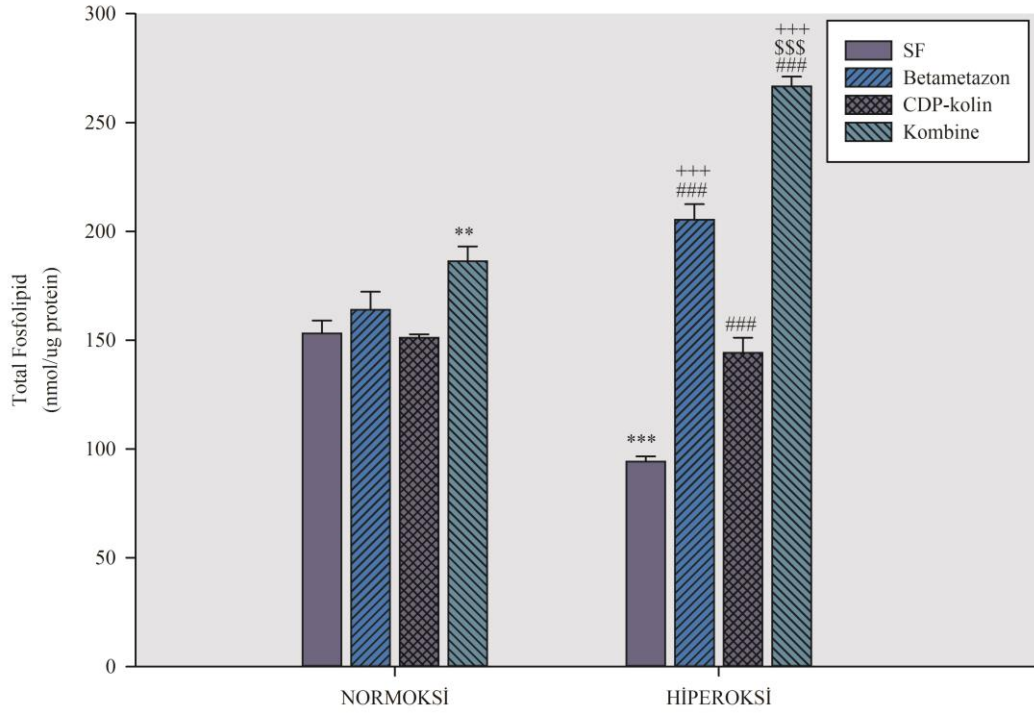
Normoksi SF grubuna göre diğer normoksi grupları içerisinde sadece normoksi kombine grubunda total fosfolipid miktarı anlamlı şekilde artmış bulundu.

Normoksi SF grubuna göre hiperoksi SF grubunda total fosfolipid miktarı anlamlı bir şekilde azalmış bulundu.

Hiperoksi SF grubuna göre hiperoksi betametazon, hiperoksi CDP-kolin ve hiperoksi kombine gruplarındaki total fosfolipid miktarı anlamlı şekilde artmış bulundu.

Hiperoksi betametazon grubuna göre karşılaştırma yapıldığında hiperoksi kombine grubunda total fosfolipid miktarının anlamlı olarak daha fazla olduğu bulundu.

Hiperoksi CDP-kolin grubuna göre karşılaştırma yapıldığında ise hiperoksi betametazon ve hiperoksi kombine gruplarında total fosfolipid miktarının anlamlı olarak daha fazla olduğu bulundu.



Şekil 7. Akciğer homojenatlarında ölçülen total fosfolipid miktarı (nmol/mg protein) **p<0,01 ***p<0,001 NSF grubuna göre; ###p<0,001 HSF grubuna göre; \$\$\$p<0,001 HBETA grubuna göre; +++p<0,001 HCDP grubuna göre. Her grupta n=6 (ortalama değer±standart hata).

4.2.2. Fosfolipid Fraksiyonlarından PC Analizi Sonuçları

Akciğer homojenatlarından elde edilen fosfolipidlerin bir fraksiyonu olan PC miktarı gruplar arasında karşılaştırıldığında (Şekil 8);

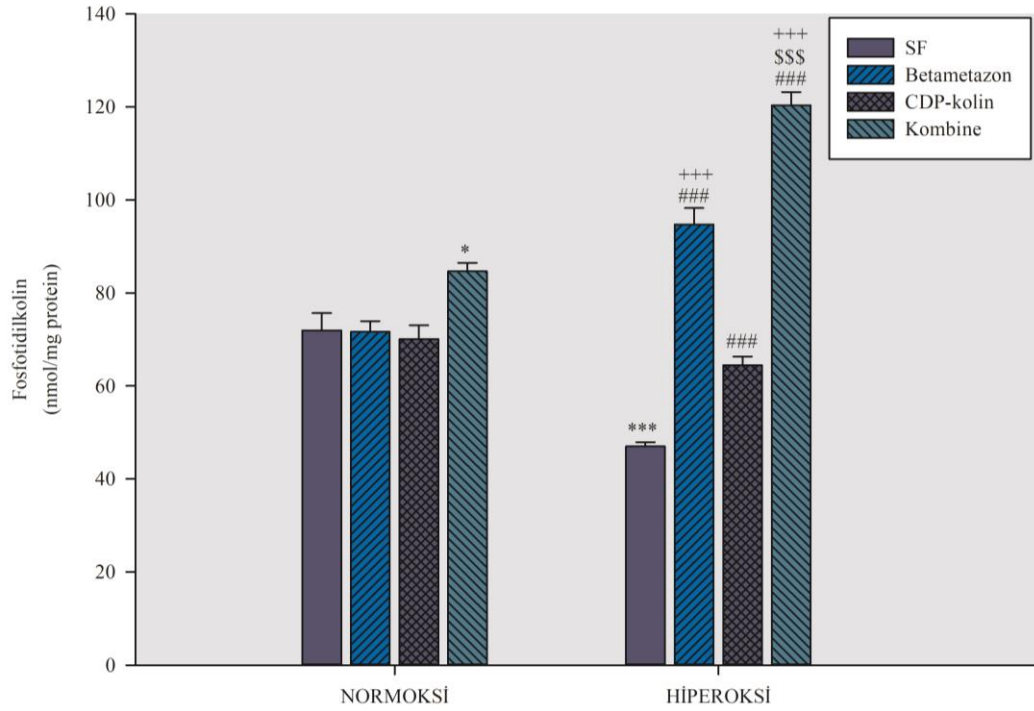
Normoksi SF grubuna göre diğer normoksi grupları içerisinde sadece normoksi kombine grubunda PC miktarı anlamlı şekilde artmış bulundu.

Normoksi SF grubuna göre hiperoksi SF grubunda PC miktarı anlamlı bir şekilde azalmış bulundu.

Hiperoksi SF grubuna göre hiperoksi betametazon, hiperoksi CDP-kolin ve hiperoksi kombine gruplarındaki PC miktarı anlamlı şekilde artmış bulundu.

Hiperoksi betametazon grubuna göre karşılaştırma yapıldığında, hiperoksi kombine grubunda PC miktarının anlamlı olarak daha fazla olduğu bulundu.

Hiperoksi CDP-kolin grubuna göre karşılaştırma yapıldığında ise hiperoksi betametazon ve hiperoksi kombine gruplarında PC miktarı anlamlı şekilde artmış bulundu.



Şekil 8. Akciğer homojenatlarında ölçülen PC miktarı (nmol/mg protein) * $p < 0,05$ *** $p < 0,001$ NSF grubuna göre; ### $p < 0,001$ HSF grubuna göre; \$\$\$ $p < 0,001$ HBETA grubuna göre; +++ $p < 0,001$ HCDP grubuna göre. Her grupta $n=6$ (ortalama değer±standart hata).

4.3. Western Blot Sonuçları

Bax/ β -Aktin protein oranı, Bax ve β -Aktin protein bantlarının ortalama dansitelerinin yüzdesi olarak oranlanıp NSF grubundaki hayvanlara göre yüzde değişim hesaplandığında (Şekil 9);

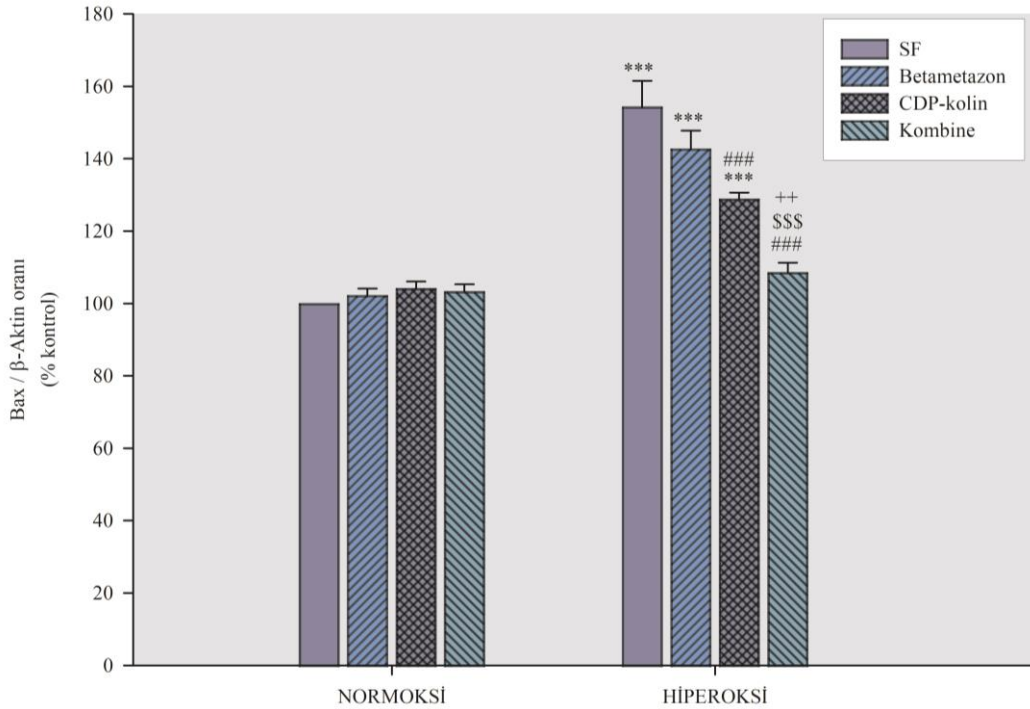
İlaç uygulanan normoksi gruplarının Bax/ β -Aktin protein düzeylerinin normoksi SF grubuna göre anlamlı olmadığı bulundu.

Hiperoksi grupları normoksi SF grubu ile karşılaştırıldığında, hiperoksi SF, hiperoksi betametazon ve hiperoksi CDP-kolin gruplarında Bax/ β -Aktin protein düzeylerinin anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlendi.

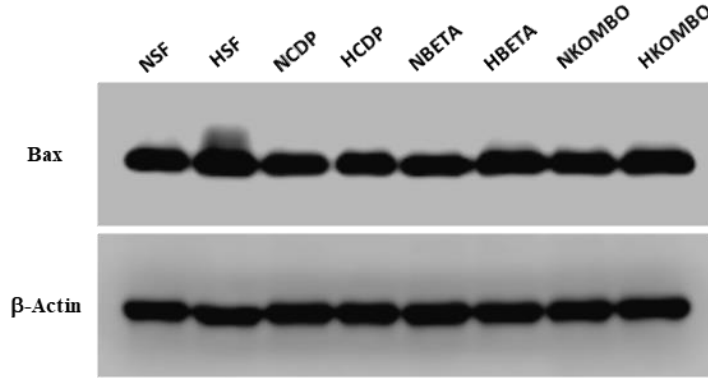
Hiperoksi SF grubuna göre karşılaştırma yapıldığında, Bax/ β -Aktin protein düzeyleri bakımından hiperoksi betametazon grubunda anlamlılık bulunmazken, hiperoksi CDP-kolin ve hiperoksi kombine gruplarında Bax/ β -Aktin protein düzeylerinin anlamlı bir şekilde düştüğü bulundu.

Hiperoksi betametazon grubuna göre Bax/ β -Aktin protein düzeyleri, hiperoksi kombine grubunda anlamlı şekilde azalmış bulundu.

Hiperoksi CDP-kolin grubuna göre Bax/ β -Aktin protein düzeyleri, hiperoksi kombine grubunda anlamlı şekilde azalmış bulundu.



Şekil 9. Bax/ β -Aktin protein oranının NSF grubuna göre yüzde değişim oranı***p<0,001 NSF grubuna göre; ###p<0,001 HSF grubuna göre; \$\$\$p<0,001 HBETA grubuna göre; ++p<0,01 HCDP grubuna göre. Her grupta n=6 (ortalama değer±standart hata).



Şekil 10. Western-blot sonucunda elde edilen protein bantlarının temsili görüntüsü.

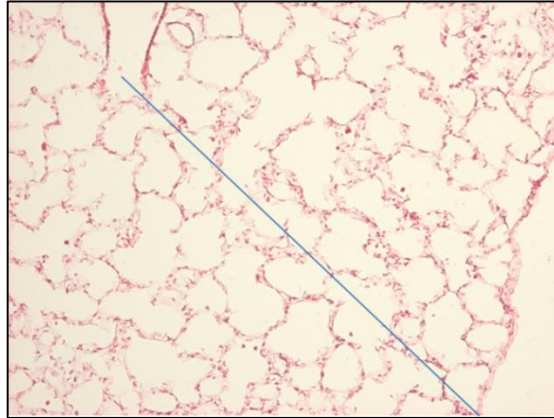
4.4. Radial Alveolar Sayım Sonuçları

İntakt alveol sayısını yansıtan ortalama radial alveolar sayım örneği Şekil 11’de gösterilmiştir (Şekil 12);

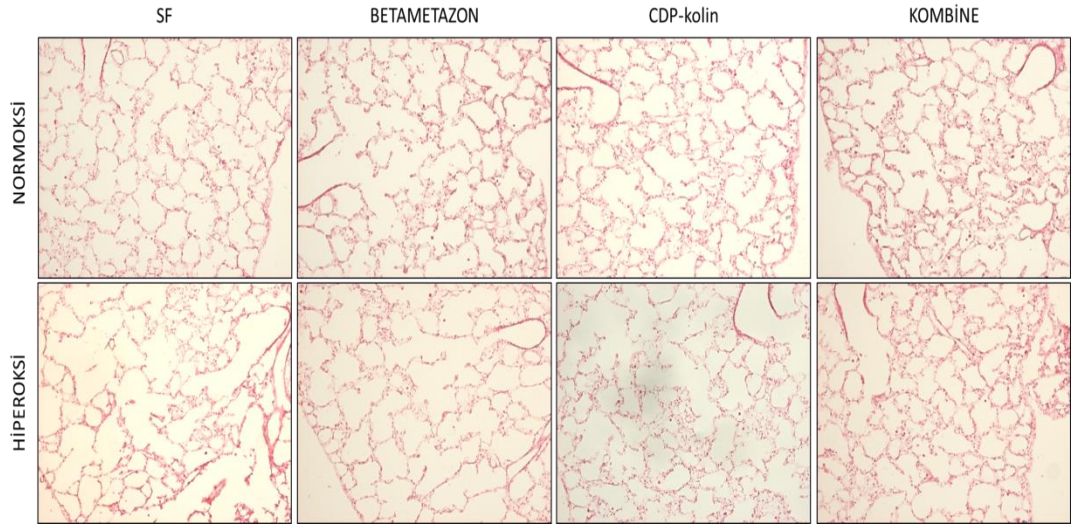
Normoksi SF grubuna göre hiperoksi SF grubunda intakt alveol sayısı anlamlı olarak düşük bulundu.

Hiperoksi SF grubuyla karşılaştırıldığında, hiperoksi betametazon grubunda anlamlılık gözlenmezken, hiperoksi CDP-kolin ve hiperoksi kombine gruplarında intakt alveol sayısı anlamlı olarak artmış bulundu.

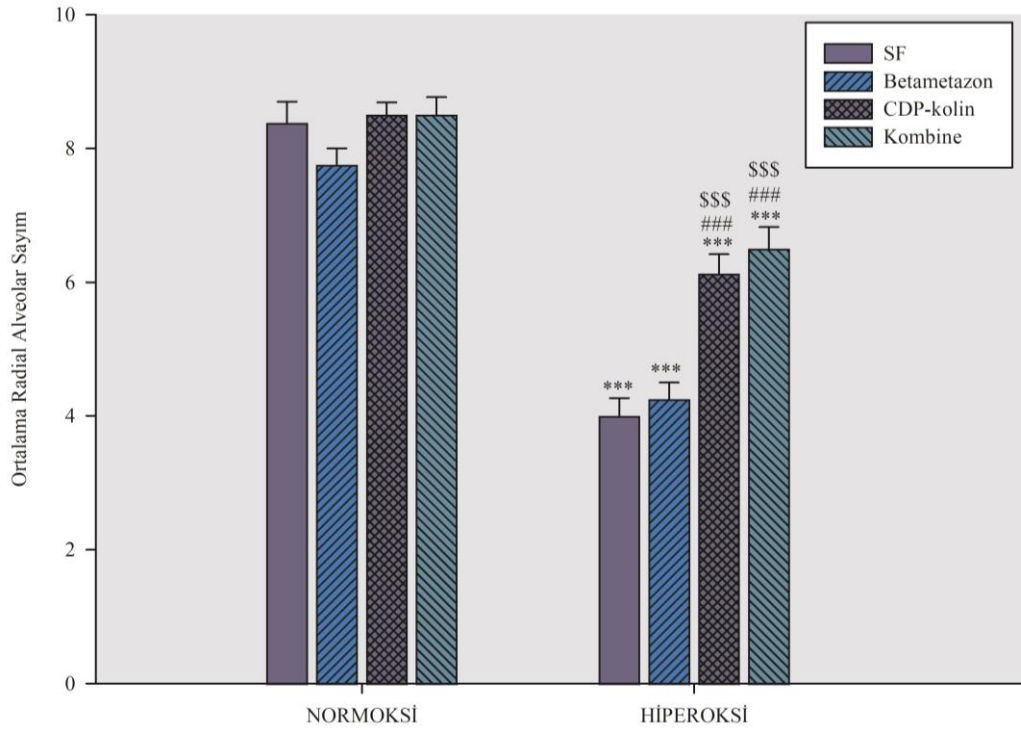
Hiperoksi betametazon grubuyla karşılaştırıldığında, hiperoksi CDP-kolin ve hiperoksi kombine gruplarında intakt alveol sayısı anlamlı olarak artmış bulundu.



Şekil 11. Radial alveolar sayım örneği. Respiratuar bronşiyolün merkezinden en yakın bağ dokusu septumuna doğru ve epitele dik olacak şekilde bir çizgi çizildi. Bu çizginin geçtiği alveoller sayıldı. (Radial alveolar sayı: 9)



Şekil 12. Temsili akciğer dokusu morfolojik görüntüleri.



Şekil 13. Ortalama radial alveolar sayım *** $p < 0,001$ NSF grubuna göre; ### $p < 0,001$ HSF grubuna göre; \$\$\$ $p < 0,001$ HBETA grubuna göre. Her grupta $n=6$ (ortalama değer±standart hata).

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Preterm infantların akciğerleri resusitasyon, mekanik ventilasyon, oksijen tedavisi ve surfaktan eksikliği gibi nedenlerle hasar görmeye çok yatkındır (Jobe ve Ikegami, 1998). BPD, genişlemiş alveollere yol açan azalmış alveolar ve vasküler akciğer gelişimi ile karakterize olup inflamasyon, pıhtılaşma bozuklukları, fibrinoliz, oksidatif stres ve sonraki dönemlerde pulmoner hipertansiyon ile komplike olur (Jobe ve Ikegami, 1998). Deney hayvanlarında hiperoksiye neonatal maruziyet prematür infantlardaki BPD'yi taklit eden ilerleyici akciğer hastalığına yol açar (Warner ve ark., 1998). Bu nedenle çalışmamızda yenidoğan sıçanlar hiperoksik akciğer hasarına maruz bırakılarak prematür infantlardaki BPD deneysel olarak taklit edilmeye çalışılmıştır.

Bugüne kadar CDP-kolin tedavisini solunum sıkıntısı sendromu olan preterm bebeklerde değerlendiren iki çalışma bulunmaktadır (Colombo ve ark., 1976; Valls i Soler ve ark., 1988). 7 Gün 100 mg/kg dozda parenteral CDP-kolin uygulaması yararlı bir etki göstermezken (Valls i Soler ve ark., 1988), 100-200 mg/kg dozda daha uzun süre uygulandığında solunum zorluğu ve oksijen gereksiniminin ciddiyetini azalttığı bildirilmiştir (Colombo ve ark., 1976). Ayrıca Çetinkaya ve ark. yapmış olduğu çalışmada, yenidoğan sıçanlara 10 gün süreyle 300 mg/kg dozda enjekte edilen CDP-kolin tedavisinin akciğer histolojisini iyileştirdiği, fibrozisi azalttığı, alveolarizasyonu iyileştirdiği, apoptozisi engellediği ve akciğer fosfolipid miktarlarını artırdığı gösterilmiştir (Cetinkaya ve ark., 2013). Bahsedilen çalışmalar baz alınarak karar verilen CDP-kolin dozunun hiperoksik akciğer hasarına karşı yararlı etkileri bu çalışmaları destekler niteliktedir ve BPD'li yenidoğanlarda uygulanabilirliğini önerebilir.

Prematür infantlarda BPD oluşumuna katkısı olduğu bilinen oksijen toksisitesi (Gien ve Kinsella, 2011) membran lipidlerinin peroksidasyonu ve hidroksil radikallerin oluşumuna yol açar. Proinflamatuvar sitokinler fosfolipaz A₂ ve fosfolipaz

C'yi aktive ederek fosfatidilkolin'in yıkımına yol açarlar (Adibhatla ve Hatcher, 2005). Fosfolipaz A₂ ile fosfatidilkolin'in hidrolizi CTP-fosfokolin sitidililtransferaz enzimini inhibe eden lizo-fosfatidilkolin açığa çıkmasına neden olur. CDP-kolin ise oksidatif stres mekanizmalarına karşı koyarak membran hasarını azalttığı bilinen bir moleküldür (Adibhatla ve Hatcher, 2005). Buna ilaveten CDP-kolin uygulaması fosfolipid sentezini arttırıcı etkinliğe sahiptir (Lopez-Coviella ve ark., 1995). Çalışmamızda CDP-kolin'in akciğer fosfolipid düzeylerini arttırıcı etkisi muhtemelen bu iki etkinliği ile ilişkilidir. Benzer etkinliklere steroidlerin de sahip olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir. Örneğin, steroidler antenatal dönemde verildiklerinde yenidoğan akciğer dokusundaki Fosfolipaz A₂ enzim aktivitesini inhibe ederler (Remesal ve ark., 2016). Ayrıca steroidler CTP-fosfokolin sitidililtransferaz enziminin aktivitesini arttırmak suretiyle fosfolipid sentezini uyarmaktadır (Hogan ve ark., 1996). Bu bilgiler ışığında bizim çalışmamızda da prenatal olarak uygulanan CDP-kolin ve betametazon hem total fosfolipid hem de fosfatidilkolin düzeylerini arttırmıştır.

Hiperoksik hasarın akciğerde programlı hücre ölümünü (apoptozis) uyardığı ve bu durumun BPD hasarına katkıda bulunan en önemli unsurlar arasında olduğu bildirilmiştir (Bland ve ark., 2008). Bu anlamda apoptotik belirteçlerin incelenmesi tedavi etkinliğini değerlendirmek açısından önemlidir. Çalışmamızda apoptotik belirteç olarak bax proteininin düzeyleri incelenmiştir. Bax düzeyleri CDP-kolin uygulaması ile anlamlı olarak azalırken betametazon tedavisinin bax düzeyleri üzerine istatistiksel anlamlılık içermeyen sadece kısıtlı bir miktar etkisi olmuştur. Böylece betametazonun fosfolipid düzeylerini arttırmasına rağmen apoptotik sürece etkisinin bulunmadığı öne sürülebilir. Bu bulguların yanı sıra kombine olarak kullanılan CDP-kolin ve betametazonun tedavisi, CDP-kolin'in tek başına olan etkisine göre daha kuvvetli bir etki göstermiş olup hiperoksik akciğer hasarında artan ve apoptotik sürecin belirteci olan bax proteinini hemen hemen normal düzeylerine geri indirmiştir.

Yapılan hayvan çalışmaları, yenidoğan döneminde hiperoksiye maruz kalmanın BPD'li bebeklerde görülen histolojiye benzer şekilde akciğerde yapısal değişikliklere neden olduğunu göstermiştir (Wilson ve ark., 1985). Hiperoksiden sonra akciğer histolojisi, distal akciğerin azalmış alveol sayısı, vasküler büyümesi ve

basitleşmiş alveol yapısı ile karakterizedir (Roberts ve ark., 1983; Warner ve ark., 1988; Wilson ve ark., 1985). Çalışmamızda hiperoksi sonucu alveolar septasyon azalmış, distal hava boşlukları genişlemiş ve basitleşmiş alveolar yapılar ortaya çıkmıştır. CDP-kolin tedavisi distal akciğer histolojisini düzelterek daha küçük ve çok sayıda alveol oluşumuna katkı sağlamıştır. Radial alveolar sayım sonuçlarına göre hiperoksi sonucu azalmış intakt alveol sayısı betametazon tedavisi ile değişmemiştir. Yapılan hayvan çalışmalarında, glukokortikoidlerin alveolarizasyonu azaltarak daha büyük ve basitleşmiş alveol yapılarına neden olduğu bildirilmiştir (Corroyer ve ark., 2002; Grier ve Halliday, 2004). CDP-kolin ve betametazonun kombine tedavisinin alveolarizasyonu düzelttiği ancak bu etkinin CDP-kolin'in tek başına olan etkisine göre anlamlı olmadığı bulunmuştur. Bu bulgular betametazon uygulamasının akciğer alveolarizasyonunu iyileştirici bir etkisinin olmadığına işaret ederek, önceki çalışmaları desteklemektedir.

Preterm fetal akciğerlerin olgunlaşmasını sağlamak için 30 yıldan beri antenatal glukokortikoidler kullanılmıştır. Pulmoner surfaktan sisteminin uyarılması, antenatal glukokortikoidlerin en önemli etkisi olarak kabul edilmiştir. Bununla birlikte, bu ilaçlar çok sayıda genin ekspresyonunu değiştirdiği için akciğerin olgunlaşmasını başka yollarla da etkilerler. Antioksidan enzim üretimi, akciğer sıvısı emilimi ve alveolar gelişim, perinatal dönemde uygulanan glukokortikoidlerden etkilenir. Glukokortikoidlerin, surfaktan proteinleri, yağ asidi sentezi, epitelyal sodyum kanalı ve membran proteini sodyum / potasyum ATPaz, katalaz, glutatyon peroksidaz ve iki süperoksit dismutaz içeren birkaç antioksidan enzim sentezi ile ilişkili genleri indüklediğine dair kanıtlar vardır (Bolt ve ark., 2001; Chalaka ve ark., 1999; van der Velden, 1998). Glukokortikoidler ayrıca, alveolarizasyonu inhibe edebilen ve anormal derecede büyük alveollere yol açabilen vasküler endotel büyüme faktörü ekspresyonunu artırır (Grier ve Halliday, 2004). Hem antenatal hem de postnatal glukokortikoidlerin kullanımı son on yılda artmıştır. Bununla birlikte, glukokortikoidlerin olası uzun vadeli etkileri ile ilgili endişeler ortaya çıktıkça, BPD tedavisinde daha spesifik ajanların geliştirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Çalışmamızda gebelik sırasında uygulanan CDP-kolin tedavisinin doğum sonrası 10 gün boyunca hiperoksiye maruz bırakılmış yenidoğan sıçanlarda akciğer hasarının azaltılmasına yönelik etkinliği incelenmiştir. Sonuçlarımız gebelikte

verilen CDP-kolin tedavisinin hiperoksik akciğer hasarlı yenidoğan sıçanlarda total fosfolipid ve fosfatidilkolin düzeylerini arttırdığını ve apoptotik bir belirteç olan Bax proteininin düzeylerini azalttığını göstermektedir. Ayrıca çalışmamızda CDP-kolin tedavisinin yenidoğan sıçanlarda akciğer histolojisini düzelterek, hiperoksi sonucu bozulmuş alveolarizasyonu artırdığı gösterilmiştir. Her bir etki istatistiksel anlamlılık arz etmektedir. Çalışmada ayrıca pozitif kontrol olarak kullanılan steroid (betametazon) tedavisinin fosfolipid düzeylerini arttırıcı etkinliği doğrulanmıştır. Ancak betametazon tedavisi ile apoptotik bax protein düzeyleri hiperoksik hasarlı yenidoğanlarda azalma eğilimi göstermiş olsa da istatistiksel olarak anlamlı bir etki gözlenmemiştir. Ayrıca betametazon tedavisi histolojik değerlendirmede hiperoksik akciğer hasarının neden olduğu azalmış alveolarizasyon üzerine anlamlı bir etki göstermemiştir. Betametazon ile CDP-kolin kombinasyonu ise bu tedavilerin tek başlarına kullanılmalarına kıyasla hem fosfolipid düzeyleri hem de apoptozis üzerine daha güçlü etkinlik göstermiştir. Sonuçlarımız literatürde ilk kez gözlenmiş bulguları içermektedir ve klinikte BPD tedavisinde prenatal dönemde kullanılan steroidlere ek olarak CDP-kolin uygulamasının daha yararlı sonuçlar ortaya çıkarabileceğine işaret etmektedir.

Bu bulgular çalışmamızın amacı olan prenatal CDP-kolin uygulamasının hiperoksik akciğer hasarına maruz bırakılan yenidoğanlarda hasarın azaltılması ve akciğer doku bütünlüğünün korunması anlamında faydalı olabileceğini düşündürmektedir. Buna ilaveten, CDP-kolin tedavisi klinikte kullanılan betametazon gibi bir steroid ile kombine edildiğinde, fosfolipid düzeylerini arttırıcı ve apoptotik hücre ölümünü baskılayıcı etkinliği çok daha artmaktadır. Çalışmamızın sonuçları klinikte BPD hasarının tedavisi için steroidlere ilaveten CDP-kolin uygulanmasının akciğer hasarını azaltarak doku maturasyonunu arttırabileceğini düşündürmektedir.

6. KAYNAKLAR

Adibhatla RM, Hatcher JF (2005) Cytidine 5'-diphosphocholine (CDP-choline) in stroke and other CNS disorders. *Neurochem Res* 30: 15-23.

ACOG Committee on Obstetric Practice (2011) ACOG Committee Opinion No. 475: Antenatal corticosteroid therapy for fetal maturation. *Obstet Gynecol* 117(2 Pt 1): 422-424.

Agostoni C, Buonocore G, Carnielli VP et al (2010) ESPGHAN Committee on Nutrition. Enteral nutrient supply for preterm infants: commentary from the European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 50: 85-91.

Aladağ N (2006) Serum 'Insulin-Like Growth Factor-1' Düzeyleri İle Prematüre Yenidoğanın Kronik Akciğer Hastalığı Arasındaki İlişki. *Uzmanlık Tezi, Edirne: Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı.*

Albertine KH, Jones GP, Starcher BC et al (1999) Chronic lung injury in preterm lambs. Disordered respiratory tract development. *Am J Respir Crit Care Med* 159: 945-958.

Arrigoni E, Averet N, Cohadon F (1987) Effects of CDP-choline on phospholipase A₂ and cholinephosphotransferase activities following a cryogenic brain injury in the rabbit. *Biochem Pharmacol* 36(21): 3697-3700.

Arslan BY, Ulus IH, Savci V et al (1991) Effects of intracerebroventricular injected choline on cardiovascular functions and sympathoadrenal activity. *J Cardiovasc Pharmacol* 17(5): 814-821.

Atasay B, Günlemez A, Ünal S et al (2003) Outcomes of very low birth weight infants in a newborn tertiary center in Turkey, 1997-2000. *Turk J Pediatr* 45: 283-289.

Atıcı A, Özkan H (2011) *Yenidoğan Bebeğin Mekanik Ventilasyonu*. 1.Baskı. Adana: Özyurt Matbaacılık

Avery ME, Mead J (1959) Surface properties in relation to atelectasis and hyaline membrane disease. *AMA J Dis Child* 97: 517-23.

- Bachofen H, Gehr P, Weibel ER (1979) Alterations of mechanical properties and morphology in excised rabbit lungs rinsed with a detergent. *J Appl Physiol* 47: 1002-1010.
- Baier RJ, Loggins J, Kruger TE (2001) Monocyte chemoattractant protein-1 and interleukin-8 are increased in bronchopulmonary dysplasia: relation to isolation of *Ureaplasma urealyticum*. *J Invest Med* 49: 362-9.
- Banks-Randall BA, Ballard RA (2005) Bronchopulmonary dysplasia. In: Avery's Disease of the newborn. Editor: Taeusch HW, Ballard RA, Gleason CA. 8 th ed. Philadelphia Elsevier Saunders 723-36.
- Bancalari E, Abdenour GE, Feller R et al (1979) Bronchopulmonary dysplasia: clinical presentation. *J Pediatr* 95: 819-23.
- Bancalari EH (2002) Neonatal chronic lung disease. Editor: Fanaroff AA, Martin RJ. Neonatal-Perinatal Medicine. St. Louis: Mosby 1057-70.
- Bancalari E, Claure N, Sosenko IR (2003) Bronchopulmonary dysplasia: changes in pathogenesis, epidemiology and definition. *Semin Neonatol* 8(1): 63-71.
- Bancalari EH (2011) Bronchopulmonary Dysplasia. Editor: Martin RJ, Fanaroff AA WMC Neonatal –Perinatal Medicine Diseases of the fetus and infant (8th ed). Elsevier Mosby 1179-92.
- Baud O, Foix-L'Heliass L, Kaminski M et al (1999) Antenatal glucocorticoid treatment and cystic periventricular leukomalacia in very premature infants. *N Engl J Med* 341: 1190-1196.
- Bhandari A, Mcgrath Morrow S (2013) Long term pulmonary outcomes of patient with bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol* 37: 132-7.
- Bland RD, Ertsey R, Mokres LM et al (2008) Mechanical ventilation uncouples synthesis and assembly of elastin and increases apoptosis in lungs of newborn mice. Prelude to defective alveolar septation during lung development? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 294: L3–L14.
- Blusztajn JK, Wurtman RJ (1983) Choline and cholinergic neurons. *Science* 221: 614-20.
- Bolt RJ, van Weissenbruch MM, Lafeber HN et al (2001) Glucocorticoids and lung development in the fetus and preterm infant. *Pediatr Pulmonol.* 32(1): 76-91.
- Bose CL, Dammann CE, Laughon MM (2008) Bronchopulmonary dysplasia and inflammatory biomarkers in the premature neonate. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 93: 455-61.

Brownfoot FC, Crowther CA, Middleton P (2008) Different corticosteroids and regimens for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev* 4: CD006764.

Cansev M (2003) CDP-Kolin'in Kardiyovasküler, Metabolik ve Nöroendokrin Etkileri, Tıpta Uzmanlık Tezi, Uludag Üniversitesi, Bursa, 2003.

Cansev M, Wurtman RJ (2005) Exogenous cytidine-5'-diphosphocholine increases brain cytidine-5'-diphosphocholine levels in gerbils. 20th Biennial Meeting of the ISN-ESN, Innsbruck, Austria, *J. Neurochem* 94 (Supp. 2): 105-106.

Carlo WA (2011) The High Risk Infant. Editor: Kligman RM, Stanton BF, Schor NF, Geme JWS, Behrman RE, Nelson textbook of pediatrics 19th edition Philadelphia Elsevier Saunders 555-64.

Carlo WA, Ambalavanan N (2011) Respiratory distress syndrome Infant. Editor: Kligman RM, Stanton BF, Schor NF, Geme JWS, Behrman RE Nelson textbook of pediatrics 19th edition Philadelphia Elsevier Saunders 581-90.

Carlton DP, Albertine KH, Cho SC et al (1997) Role of neutrophils in lung vascular injury and edema after premature birth in lambs. *J Appl Physiol* 83: 1307-17.

Cavun S, Savci V (2004) CDP-choline increases plasma ACTH and potentiates the stimulated release of GH, TSH and LH: the cholinergic involvement. *Fundam Clin Pharmacol* 18(5): 513-523.

Cetinkaya M, Cansev M, Kafa IM et al (2013) Cytidine 5'-diphosphocholine ameliorates hyperoxic lung injury in a neonatal rat model. *Pediatr Res* 74(1): 26-33.

Chakraborty M, McGreal EP, Kotecha S (2010) Acute lung injury in preterm newborn infants: mechanisms and management. *Pediatric Respiratory Reviews* 11: 162-70.

Chalaka S, Ingbar DH, Sharma R et al (1999) Na⁺-K⁺-ATPase gene regulation by glucocorticoids in a fetal lung epithelial cell line. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 277: L197-L203.

Christou H, Brodsky D (2005) Lung injury and bronchopulmonary dysplasia in newborn infants. *J Intensive Care Med* 20(2): 76-87.

Clark RH, Gerstmann DR, Jobe AH et al (2001) Lung injury in neonates: causes, strategies for prevention, and long-term consequences. *J Pediatr* 139: 478-86.

Clyman RI (2013) The role of patent ductus arteriosus and its treatments in the development of bronchopulmonary dysplasia. *Semin Perinatol* 37: 102-7.

Coalson JJ (2003) Pathology of new bronchopulmonary dysplasia. *Semin Neonatol* 8(1): 73-81.

Cohen EL, Wurtman RJ (1975) Brain acetylcholine: increase after systemic choline administration. *Life Sci* 16: 1095-102.

Colombo ML, Dogliani P, Raggi M (1976) Relation between citicoline and pulmonary surfactant. Recent acquisitions in the treatment of respiratory syndromes of the newborn. *Minerva Pediatr* 28: 2303-10.

Corroyer S, Schittny JC, Djonov V et al (2002) Impairment of Rat Postnatal Lung Alveolar Development by Glucocorticoids: Involvement of the p21CIP1 and p27KIP1 Cyclin-Dependent Kinase Inhibitors. *Pediatr Res* 51: 169-176,

Creuwels LAJM, van Golde LMG, Haagsman HP (1997) The pulmonary surfactant system: Biochemical and Clinical Aspects, *Lung* 175: 1-39.

Crowley PA (1995) Antenatal corticosteroid therapy: a meta-analysis of the randomized trials, 1972 to 1994. *Am J Obstet Gynecol* 173(1): 322-335.

Crowther CA, McKinlay CJ, Middleton P et al (2011) Repeat doses of prenatal corticosteroids for women at risk of preterm birth for improving neonatal health outcomes. *Cochrane Database Syst Rev* 6: CD003935.

Curstedt T, Jornvall H, Robertson B et al (1987) Two hydrophobic low-molecular-mass protein fractions of pulmonary surfactant. Characterization and biophysical activity. *Eur J Biochem* 168: 255-262.

D'Angio CT, Maniscalco WM (2004) Bronchopulmonary dysplasia in preterm infants. *Paediatr Drugs* 6(5): 303-330.

Dani C, Poggi C (2012) Nutrition and bronchopulmonary dysplasia *J Matern Fetal Neonatal Med* 3: 37-40.

Das RM (1984) The effects of intermittent starvation on lung development in suckling rats. *Am J Pathol* 117: 326-332.

Denne SC (2001) Energy expenditure in infants with pulmonary insufficiency: is there evidence for increased energy needs. *J Nutr* 131:935-37.

De Rosa M, Galletti P, Romeo G et al (1985) Pharmacokinetics and metabolism of double-labelled CDP-choline. Editor: Zappia V, Kennedy EP, Nilsson BI, Galletti P, Novel biochemical, pharmacological and clinical aspects of cytidine diphosphocholine. Amsterdam, Elsevier Science Publishing, pp. 139-57.

Dieperink HI, Blackwell TS, Prince LS (2006) Hyperoxia and apoptosis in developing mouse lung mesenchyme. *Pediatr Res* 59: 185-89.

Dinsdale JRM, Griffiths GK, Rowlands C et al (1983) Pharmacokinetics of ¹⁴C CDP-choline. *Arzneimittelforschung* 33: 1066-70.

Dixon CE, Ma X, Marion DW (1997) Effects of CDP-choline treatment on neurobehavioral deficits after TBI and on hippocampal and neocortical acetylcholine release. *J. Neurotrauma* 14: 161-169.

Duman N, Kumral A, Gülcan H et al (2003) Outcome of very-low-birth-weight infants in a developing country: A prospective study from the west region of Turkey. *J Matern Fetal Neonatal Med* 13(1): 54-8.

Fanarof AA, Stoll BJ, Wright LL et al (2007) Trends in neonatal morbidity and mortality for very low birth weight infants. *Am J Obstet Gynecol* 196(2): 147.e1-147e8.

Floridi A, Vecchini A, Palmerini CA et al (1981) Cytidine uptake and utilization in primary culture from the rat brain. *Meeting of the Italian Biochemical Society* 3: 317-319.

Folch J, Lees M, Sloane-Stanley GH (1957) A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. *J. Biol Chem* 226: 497-509.

Frank L, Groseclose E (1982) Oxygen toxicity in newborn rats: the adverse effects of undernutrition. *J Appl Physiol* 53: 1248-1255.

Frerking I, Günther A, Seeger W et al (2001) Pulmonary surfactant: functions, abnormalities and therapeutic options, *Intensive Care Med* 27: 1699-1717.

Fujiwara T, Maeta H, Chida S (1980) Artificial surfactant therapy in hyaline-membrane disease. *Lancet* 12: 55-59.

Galletti P, De Rosa M, Nappi MA et al (1985) Transport and metabolism of doublelabelled CDPcholine in mammalian tissues. *Biochem Pharmacol* 34: 4121-30.

Galletti, P, De Rosa M, Cotticelli MG et al (1991) Biochemical rationale for the use of CDPcholine in traumatic brain injury: pharmacokinetics of the orally administered drug. *J Neurol Sci* 103: 19-25.

G-Coviella IL, Wurtman RJ (1992) Enhancement by cytidine of membrane phospholipid synthesis. *J Neurochem* 59(1): 338-43.

Gien J, Kinsella JP (2011) Pathogenesis and treatment of bronchopulmonary dysplasia. *Curr Opin Pediatr* 23: 305-13.

Grier DG, Halliday HL (2004) Effects of glucocorticoids on fetal and neonatal lung development. *Treat Respir Med* 3(5): 295-306.

Gross I, Ballard PL (2004) Hormonal Therapy for Prevention of Respiratory Distress Syndrome. In: Polin RA, Fox WW, Abman SH, eds. *Fetal and Neonatal Physiology*. Philadelphia: Saunders 1069-1074.

Gülcan H, Üzüm İ, Aslan S et al (2004) İnönü Üniversitesi yenidoğan yoğun bakım ünitesinde izlenen çok düşük doğum ağırlıklı preterm olgularımızın değerlendirilmesi. İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi 11(1): 19-23.

Haagsman HP, Diemel RV(2001) Surfactant-associated proteins: functions and structural variation, Comparative Biochemistry and Physiology Part A, 129: 91-108.

Haines DS, Tokmakjian SD (1987) Actions of dietary orotic acid on liver synthesis of phosphatidylcholine and phosphatidylethanolamine in rats. Biochem Cell Biol 65(2): 105-111.

Halliday HL (2006) Recent clinical trials of surfactant treatment for neonates. Biol Neonate 89: 323-329.

Halliday HL (2008) Surfactants: past, present and future. J Perinatol 28 Suppl 1: s47-s56.

Hallman M, Haataja R (2003) Genetic influences and neonatal lung disease. SeminNeonatal 8: 18-27.

Hirsch MJ, Growdon JH, Wurtman RJ (1977) Increase in hippocampal acetylcholine after choline administration. Brain Res 125: 383-5.

Hogan M, Kuliszewski M, Lee W et al (1996) Regulation of phosphatidylcholine synthesis in maturing type II cells: increased mRNA stability of CTP: phosphocholine cytidyltransferase. Biochem J 314: 799-803.

Jobe AH, Bancalari E (2001) Bronchopulmonary dysplasia. Am J Respir Crit Care Med 163: 1723-9.

Jobe AH, Ikegami M (1998) Mechanisms initiating lung injury in the preterm. Early Hum Dev 53: 81-94.

Jobe AH, Soll RF (2004) Choice and dose of corticosteroid for antenatal treatments. Am J Obstet Gynecol 4: 878-881.

Johnson RG, Lugg MA, Nicholas TE (1979) Uptake of [¹⁴C]choline and incorporation into lung phospholipids by the isolated rat lung. Lipids 14: 555-558.

Kalenga M, Tschanz SA, Burri PH (1995) Protein deficiency and the growing rat lung. II. Morphometric analysis and morphology. Pediatr Res 37: 789-795.

Kennedy EP, Weiss SB (1956) The function of cytidine coenzymes in the biosynthesis of phospholipides. J Biol Chem 222(1): 193-214.

Kinsella JP, Greenough A, Abman SA (2006) Bronchopulmonary dysplasia. Lancet 367: 1421-31.

Kennedy KA, Stoll BJ, Ehrenkranz RA et al (1997) Vitamin A to prevent bronchopulmonary dysplasia in very low birth weight infants: has the dose been too low. *Early Hum Dev* 49: 19-31.

Kobayashi T, Nitta K, Ganzuka M et al (1991) Inactivation of exogenous surfactant by pulmonary edema fluid. *Pediatr Res* 29(4 Pt 1): 353-6.

Koksal N, Akpinar R, Cetinkaya M (2009) Early administration of the second surfactant dose in preterm infants with severe respiratory distress syndrome. *The Turkish Journal of Pediatrics* 51: 556-64.

Korfhagen TR, Bruno MD, Ross GF et al (1996) Altered surfactant function and structure in SP – A gene targeted mice, *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 93: 9594-9599.

Lemons JA, Bauer CR, Oh W et al (2001) Very low birth weight outcomes of the National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network, January 1995 through 1996. *Pediatrics* 107: 1-8.

Li YH, Tullus K (2002) Microbial infection and inflammation in the development of chronic lung disease of prematurity. *Microbes Infect* 4: 723-32.

Liggins GC, Howie RN (1972) A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory distress syndrome in premature infants. *Pediatrics* 50: 515-525.

Lopez-Coviella I, Agut J, Savcı V et al (1995) Evidence that 5'-cytidine diphosphocholine can affect brain phospholipid composition by increasing choline and cytidine plasma levels. *J. Neurochem* 65: 889-894.

Makri V, Hospes B, Stoll-Becker S et al (2002) Polymorphisms of surfactant protein B encoding gene: modifiers of the course of neonatal respiratory distress syndrome? *Eur J Pediatr* 161: 604-608.

Millar D, Schmidt B (2004) Controversies surrounding xanthine therapy. *Semin Neonatol* 9: 239-244.

Minoo P (2000) Transcriptional regulation of lung development: emergence of specificity. *Respir Res* 1(2): 109-15.

Morley CJ, Davis PG, Doyle LW et al (2008) Nasal CPAP or intubation at birth for very preterm infants *N Engl J Med* 358: 700-8.

Muhumuza CK, Rodriguez A, Fairchild KD et al (2004) Inflammatory markers in intrauterine and fetal blood and cerebrospinal fluid compartments are associated with adverse pulmonary and neurologic outcomes in preterm infants. *Pediatr Res* 55: 1009-17.

Narendran V, Donovan EF, Hoath SB et al (2003) Early bubble CPAP and outcomes in ELBW preterm infants. *J Perinatol* 23: 195-9.

Nievas FF, Chernick V (2002) Bronchopulmonary dysplasia (chronic lung disease of infancy) an update for the pediatrician. *Clin Pediatr* 41: 77-85.

NIH (1994) Effect of corticosteroids for fetal maturation on perinatal outcomes. *NIH Consens Statement* 12: 1-24.

NIH (2000) Antenatal corticosteroids revisited: repeat courses. *NIH Consens Statement* 17: 1-18.

Northway WH Jr, Rosan RC, Porter DY (1967) Pulmonary disease following respirator therapy of hyaline-membrane disease. Bronchopulmonary dysplasia. *N Engl J Med* 276(7): 357-368.

Paroni R, Cighetti G, Del Puppo M et al (1985) Evidence for a different metabolic behaviour of cytidine diphosphate choline after oral and intravenous administration to rats. *Pharmacol Res Commun* 17(9): 805-829.

Perez – Gil J, Serrano AG (2006) Protein – lipid interactions and surface activity in the pulmonary surfactant system, *Chemistry and Physics of Lipids* 141: 105-118.

Persson A, Chang D, Rust K et al (1989) Purification and biochemical characterization of CP4 (SP-D), a collagenous surfactant-associated protein, *Biochemistry* 28: 6361-6367.

Pietrzyk JJ, Kwinta P, Wollen EJ, et al (2013) Gene Expression profiling in preterm infants: new aspects of bronchopulmonary dysplasia development. *Plos One* 8:e78585.

Poets CF, Southall DP (1994) Noninvasive monitoring of oxygenation in infants and children: practical considerations and areas of concern. *Pediatric* 93: 737-746.

Pusey VA, Macphersin RI, Chernick V (1969) Pulmonary fibroplasia following prolonged artificial ventilation of the newborn infant. *Can Med Assoc J* 100: 451-7.

Remesal A, De Luca D, San Feliciano L et al (2016) Effect of prenatal steroidal inhibition of sPLA2 in a rat model of preterm lung. *Pulm Pharmacol Ther* 36: 31-6.

Richardson UI, Watkins CJ, Pierre C et al (2003) Stimulation of CDP-choline synthesis by uridine or cytidine in PC12 rat pheochromocytoma cells. *Brain Res* 971: 161-167.

Rimensberger PC (2002) Neonatal respiratory failure. *Curr Opin Pediatr* 14(3): 315-21.

Roberts D, Dalziel S (2006) Antenatal corticosteroids for accelerating fetal lung maturation for women at risk of preterm birth. *Cochrane Database Syst Rev* 3: CD004454.

Roberts RJ, Weesner KM, Bucher JR (1983) Oxygen-induced alterations in lung vascular development in the newborn rat. *Pediatr Res* 17: 368-375.

Robertson B, Curstedt T, Tubman R et al (1992) A 2-year follow up of babies enrolled in a European multicentre trial of porcine surfactant replacement for severe neonatal respiratory distress syndrome. Collaborative European Multicentre Study Group. *Eur J Pediatr* 151: 372-376.

Rodriguez-Capote K, Manzanares D, Haines T et al (2006) Reactive oxygen species inactivation of surfactant involves structural and functional alterations to surfactant proteins sp-b and sp-c. *Biophys J* 90: 2808-2821.

Rojas MA, Gonzalez A, Bancalari E et al (1995) Changing trends in the epidemiology and pathogenesis of neonatal chronic lung disease. *The Journal of pediatrics* 126(4): 605-10.

Sarıcı SÜ (2006) Bronkopulmoner displazi: Tanımı, patogenezi, epidemiyolojisi ve patolojisinde yeni görüşler. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 49: 60-70.

Savcı V, Wurtman RJ (1995) Effect of cytidine on membrane phospholipid synthesis in rat striatal slices. *J Neurochem* 64(1): 378-384.

Secades J (2011) Citicoline: pharmacological and clinical review, 2010 update. *Revista De Neurologia* 52: 1-62.

Schürch S, Possmayer F, Cheng S et al (1992) Pulmonary SP-A enhances adsorption and appears to induce surface sorting of lipid extract surfactant, *American Journal of Physiology* 263: 210-218.

Shah SS, Ohlsson A, Halliday H (2003) Inhaled versus systemic corticosteroids for preventing chronic lung disease in ventilated very low birth weight preterm neonates. *Cochrane Database Syst Rev* 1: CD002058.

Speer CP (2001) New insights into the pathogenesis of pulmonary inflammation in preterm infants. *Biol Neonate* 79: 205-9.

Speer CP (2003) Inflammation and bronchopulmonary dysplasia. *Semin Neonatol* 8(1): 29-38.

Spitzer AR, Fox WW, Delivoria-Papadopoulos M (1981) Maximum diuresis: a factor in predicting recovery from respiratory distress syndrome and the development of bronchopulmonary dysplasia. *J Pediatr* 98: 476-9.

Stevens TP, Harrington EW, Blennow M (2007) Early surfactant administration with brief ventilation vs. selective surfactant and continued mechanical ventilation for preterm infants with or at risk for respiratory distress syndrome. *Cochrane Database Syst Rev* 4: CD003063.

Thome U, Gotze-Speer B, Speer CP et al (1998) Comparison of pulmonary inflammatory mediators in preterm infants treated with intermittent positive pressure ventilation or high frequency oscillatory ventilation. *Pediatr Res* 44: 330-7.

Thompson A, Bhandari V (2008) Pulmonary biomarkers of bronchopulmonary dysplasia *Biomark Insights* 3: 361-73.

Tin W, Wiswell TE (2008) Adjunctive therapies in chronic lung disease: Examining the evidence. *Semin Fetal Neonatal Med* 13: 44-52.

Ulus IH, Cansev M (2010) Kolin'in merkezi ve periferik kolinerjik nöronlarda ve kolinerjik iletimdeki işlevi. *ACU Sağlık Bil Derg* 1: 68-80.

Valls i Soler A, Sanjurjo P, Vazquez Cordero C (1988) Controlled study of the administration of CDP-choline to preterm newborn infants with respiratory distress syndrome. *An Esp Pediatr* 28: 493-6.

Van der Velden VH (1998) Glucocorticoids: mechanisms of action and anti-inflammatory potential in asthma. *Mediators Inflamm.* 7(4): 229-237.

Van Golde LM (1976) Metabolism of phospholipids in the lung. *Am Rev Respir Dis* 114: 977-1000.

Van Marter LJ, Leviton A, Allred EN et al (1990) Hydration during the first days of life and the risk of bronchopulmonary dysplasia in low birth weight infants. *J Pediatr* 116: 942-9.

Walsh MC, Szeffler S, Davis J et al (2006) Summary proceedings from the bronchopulmonary dysplasia group. *Pediatrics* 117(3 pt 2): S52-S56.

Wang Z, Gurel O, Baatz JE et al (1996) Differential activity and lack of synergy of lung surfactant proteins SP-B and SP-C in interactions with phospholipids. *J Lipid Res* 37: 1749-1760.

Wardle SP, Hughes A, Chen S et al (2001) Randomised controlled trial of oral vitamin A supplementation in preterm infants to prevent chronic lung disease. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 84: 9-13.

Warner BB, Stuart LA, Papes RA et al (1998) Functional and pathological effects of prolonged hyperoxia in neonatal mice. *Am J Physiol* 275(1Pt 1): L110-7.

Weiss GB (1995) Metabolism and actions of CDP-choline as an endogenous compound and administered exogenously as citicoline. *Life Sci* 56: 637-660.

Wilson WL, Mullen M, Olley PM et al (1985) Hyperoxia induced pulmonary vascular and lung abnormalities in young rats and potential for recovery. *Pediatr Res* 19: 1059-1067.

Wurtman RJ, Regan M, Ulus IH et al (2000) Effect of oral CDP-choline on plasma choline and uridine levels in humans. *Biochem. Pharmacol* 60: 989-992.

Yashima K, Takamatsu M, Okuda K (1975) Intestinal absorption of cytidine diphosphate choline and its changes in the digestive tract. *J Nutr Sci Vitaminol* 21(1): 49-60.

Yost RW, Chander A, Fisher AB (1985) Differential response of lung and liver of juvenile rats to choline deficiency. *J Appl Physiol* 59: 738-742.

Zeisel SH (1997) Choline: essential for brain development and function. *Adv Pediatr* 44: 263-295.

Zeisel SH (2004) Nutritional importance of choline for brain development. *J Am Coll Nutr* 23(6): 621-626.

7. SİMGELER ve KISALTMALAR

ACTH: Adrenokortikotropik hormon
ADDA: Aşırı düşük doğum ağırlıklı
ATP: Adenozin trifosfat
BPD: Bronkopulmoner Displazi
CCT: Fosfokolin sitidil transferaz
ÇDDA: Çok düşük doğum ağırlıklı
CDP-kolin: Sitidin 5-difosfokolin
CO₂: Karbondioksit
CPT: 1,2 diaçilgliserol kolin fosfotransferaz
CTP: Sitidin trifosfat
DAG: Diaçilgliserol
DDA: Düşük doğum ağırlıklı
GH: Gestasyon haftası
i.p: İntraperitoneal
i.v: İntravenöz
LH: Luteinizan hormon
nCPAP: Nazal pozitif hava yolu basıncı
NHLB: National Heart, Lung and Blood Institute
NICHD: National Institute of Child Health and Human Development
O₂: Oksijen
ORD: Office of Rare Disease
PBV: Pozitif basınçlı ventilasyon
PC: Fosfatidilkolin
PDA: Patent duktus arteriozus
PE: Fosfatidiletanolamin
PEEP: Ekspiryum sonu pozitif basınç
PM: Postmenstrüel
PS: Fosfatidilserin
PVDF: Poliviniliden florür
RDS: Respiratuar Distress Sendromu
SDS-PAGE: Sodyum dodesil sülfat poliakrilamid
SF: Serum fizyolojik
SM: Sfingomiyelin
TBST: Tris tamponlu salin ve tween 20
TGFβ: Transforming growth factor beta
TNFα: Tumor necrosis factor alfa
TSH: Tiroid stimulan hormon
VEGF: Vascular endothelial growth factor
μl: Mikrolitre

8. TEŞEKKÜR

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimim boyunca gerekli tüm yardım, tavsiye ve yönlendirmeleri yapan, destek ve katkılarını esirgemeyen ve öğrencisi olmaktan gurur duyduğum tez danışmanım Prof. Dr. Mehmet CANSEV hocama;

Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Sinan ÇAVUN ve kıymetli hocalarım Prof. Dr. R. Levent BÜYÜKUYSAL, Prof. Dr. Vahide SAVCI, Prof. Dr. Mine Sibel GÜRÜN, Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY ve Prof. Dr. M. Sertaç YILMAZ'a;

Her konuda desteğini ve bilgisini esirgemeyen, bilime ve hayata dair çok şey öğrendiğim Kimyager Sami AYDIN'a;

Anabilim dalımızın değerli çalışanlarına;

Tez çalışmamın bir kısmını yürüttüğüm Fizyoloji Anabilim Dalı'nda desteğini eksik etmeyen Prof. Dr. Tülin Alkan hocama;

Birlikte çalışmaktan keyif aldığım, çalışmalarımın yardımcıları ve dostluklarıyla yanımda olan çalışma arkadaşlarım Arş. Gör. Dr. Ayşen ÇAKIR, Arş. Gör. Büşra ÖCALAN, Arş. Gör. Dr. Berna SALMAN ve Arş. Gör. Dr. Gülce SEVDAR ÇEÇEN'e;

Her zaman yanımda hissettiğim, her konuda beni destekleyen eşim Cemil Koç'a ve hayatımın her alanında yanımda olan, bana güç veren ve motive eden aileme ve bana desteğini esirgemeyen herkese teşekkür ederim.

Bu tez çalışması Bursa Uludağ Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri birimi tarafından desteklenmiştir (Destek No: KUAP (T)-2016/23).

9. ÖZGEÇMİŞ

22 Şubat 1987 tarihinde Tekirdağ'da doğdum. Lise öğrenimimi 2001-2005 yılları arasında Tekirdağ Tuğlacılar Lisesi'nde, lisans eğitimimi 2006-2011 yılları arasında Uludağ Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde tamamladım. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Moleküler Biyoloji Bilim Dalı'nda ilk yüksek lisansımı 'Arpanın Cas Geni Homoloğunun Klonlanması ve Kütleme Hastalığına Karşı Dirençlilikte Ekspresyon Seviyesinin İncelenmesi' tez başlığı ve 110T984 nolu TÜBİTAK proje bursu ile 2011-2013 yılları arasında bitirdim. 2013 yılından bu yana Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıp-Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'nda yüksek lisans eğitimime devam etmekteyim.

ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ

TEZ ÇOĞALTMA VE ELEKTRONİK YAYIMLAMA İZİN FORMU

Yazar Adı Soyadı	Cansu KOÇ
Tez Adı	Maternal CDP-kolin Tedavisinin Yenidoğan Sıçan Akciğer Dokusu Maturasyonu Üzerine Olası Etkilerinin Araştırılması
Enstitü	Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Anabilim Dalı	Tıp-Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı
Bilim Dalı	-
Tez Türü	Yüksek Lisans
Tez Danışman(lar)ı	Prof. Dr. Mehmet CANSEV
Çoğaltma (Fotokopi Çekim) İzni	<input checked="" type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin veriyorum <input type="checkbox"/> Tezimin sadece içindekiler, özet, kaynakça ve içeriğinin % 10 bölümünün fotokopi çekilmesine izin veriyorum <input type="checkbox"/> Tezimden fotokopi çekilmesine izin vermiyorum
Yayımlama İzni	<input type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasına izin veriyorum <input checked="" type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasının ertelenmesini istiyorum 1 yıl <input type="checkbox"/> 2 yıl <input type="checkbox"/> 3 yıl <input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Tezimin elektronik ortamda yayımlanmasına izin vermiyorum

Hazırlamış olduğum tezimin yukarıda belirttiğim hususlar dikkate alınarak, fikri mülkiyet haklarım saklı kalmak üzere Uludağ Üniversitesi Kütüphane ve Dokümantasyon Daire Başkanlığı tarafından hizmete sunulmasına izin verdiğimi beyan ederim.

Tarih:

İmza: